

# **Photoinduzierte Wirkstoff- und Farbstofffreisetzung aus hydrophilen Polymeren**

## **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

dem

Fachbereich Chemie

der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Dipl. Pharm. Annegret Philippine Busch**

aus

Kirchhain

Marburg, 2015

Vom Fachbereich Chemie  
der Philipps-Universität Marburg als Dissertation  
angenommen am: 22.07.2015

Erstgutachter: Prof. Dr. N. Hampp  
Zweitgutachter: Prof. Dr. A. Greiner

Tag der mündlichen Prüfung: 14.09.2015  
Hochschulkennziffer: 1180



Diese Arbeit widme ich meinem Ehemann Andreas Hedderich.

## Publikationen

Einzelne Teile dieser Arbeit wurden vorab veröffentlicht andere sind in Arbeit.

- 2015      Annegret P. Busch, Nobert Hampp  
            *„Two-Photon-Absorption Triggered Release of 5-Fluorouracil from Isomer-Pure Polymer-Bound Syn-Head-to-Head Dimers for Novel Intraocular Lenses.“*  
            In preparation
- 2015      Annegret P. Busch, Julia Liese, Nobert Hampp  
            *„Synthesis and Photocleavage of a new polymerizable [2+2]- crossdimer for photo-triggered drug release from polymer backbone.“*  
            In preparation
- 2015      Annegret P. Busch, Hee-Cheol Kim, Nobert Hampp  
            *„Synthesis and Imaging of photocleavage of a new crossdimer of a fluorescent dye and a linker for photo-triggered release from polymer backbone.“*  
            In preparation

## Poster

- 03/2014      Annegret P. Busch, Norbert Hampp  
            *“Photo-triggered drug release from functionalized hydrophilic polymers”*  
            Sino-German Workshop “Functional (Nano-) Biomaterials”, Marburg
- 06/2012      Annegret P. Busch, Julia Liese, Norbert Hampp  
            *“Kinetics of photo-triggered drug release from intraocular lenses”*  
            XXIV IUPAC Symposium Photochemistry, Coimbra, Portugal

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>2</b>
1.1	Kurzfassung . . . . .	2
1.2	Abstract . . . . .	4
1.3	Pericyclische Reaktionen . . . . .	6
1.4	Photonen induzierte [2+2]-Cycloreversion . . . . .	12
1.5	Ein-Photonen- und Zwei-Photonen-Experimente . . . . .	18
1.6	Strategien der Wirkstofffreisetzung aus Polymeren . . . . .	22
1.7	Prinzipien der kontrollierten Freisetzung . . . . .	23
1.8	Polymere Drug-Delivery-Systeme in der Augenheilkunde . . . . .	27
1.9	Grauer Star . . . . .	32
1.10	Der Nachstar . . . . .	37
1.11	Pharmakologische Wirkungsweise von 5-Fluoruracil (5-FU) und Tranilast . . . . .	42
<b>2</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>47</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>50</b>
3.1	Heptanoyl-5-Fluoruracil-Homodimere (H5FU-HD) . . . . .	52
3.2	Konfiguration der H5FU-Homodimere . . . . .	52
3.3	Photochemische Eigenschaften von H5FU-HD . . . . .	54
3.4	SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der H5FU-Homodimere .	56
3.5	Photochemisch spaltbare Linkersysteme zur Entwicklung von wirkstoff- beladenen Polymeren . . . . .	64
3.6	Freisetzungskinetik von 5-FU aus dem Polymermaterial . . . . .	65
3.7	Ein-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus funktionalisiertem Po- lymer . . . . .	66
3.8	Untersuchung der Freisetzungskinetik aus funktionalem Polymer . . . . .	68
3.9	Lichtecktest . . . . .	75
3.10	Zwei-Photonen (TPA) gesteuerte Freisetzung aus Polymermaterial . . . . .	77

3.11 Chalkon-Heptanoyl-5-Fluoruracil (CFKD) . . . . .	79
3.11.1 Bestimmung der photochemische Eigenschaften von CFKD . . . . .	79
3.11.2 SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der CFKD . . . . .	82
3.11.3 Ein-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus funktionalisier- tem CFKD-Polymer . . . . .	86
3.11.4 Zwei-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus funktionali- siertem CFKD-Polymer . . . . .	88
3.11.5 Lichtechtheitstest mit CFKD funktionalisierten Polymer . . . . .	90
3.12 Fluoreszierende polymere Freisetzungssysteme . . . . .	93
3.12.1 Photochemische Eigenschaften des TCKD . . . . .	94
3.12.2 SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der TC-Kreuzdimere . . . . .	97
3.12.3 Ein-Photonen induzierte Freisetzung an TCKD funktionalisiertem Polymer . . . . .	100
3.12.4 Zwei-Photonen induzierte Freisetzung an TCKD funktionalisier- tem Polymer . . . . .	101
3.12.5 Visuelle Darstellung der TPA-Experimente anhand des TCKD- funktionalisierten Polymers . . . . .	103
3.13 Chinin als möglicher Fluoreszenzmarker für polymere Systeme . . . . .	105
3.14 Paternò-Büchi-Reaktion . . . . .	109
3.15 Konfiguration des Benzophenon- H5FU-Kreuzdimers (BFKD) . . . . .	115
3.16 Photochemische Eigenschaften des Benzophenon- H5FU-Kreuzdimers (BFKD) . . . . .	116
3.17 Tranilast - alternativer Wirkstoff zur Behandlung des sekundären Katarakts	119
3.17.1 Tranilast - Coumarin-Kreuzdimer (TraCoum-KD) . . . . .	120
3.17.2 SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der TraCoum-KD . . . . .	121

<b>4 Materialien und Methoden</b>	<b>123</b>
4.1 Chemikalien . . . . .	123
4.2 Analytik . . . . .	125
4.2.1 Kernspinresonanzspektroskopie . . . . .	125
4.2.2 HPLC-Chromatographie . . . . .	125
4.2.3 Massenspektrometrie . . . . .	126

4.2.4	UV/VIS-Spektroskopie . . . . .	126
4.2.5	Fluoreszenzspektroskopie . . . . .	127
4.2.6	Visuelle Darstellung der Freisetzung aus TCKD funktionalisiertem Polymer . . . . .	127
4.2.7	CHN-Analyse . . . . .	127
4.2.8	Sterilisationsverfahren . . . . .	127
4.3	Reinigungsmethoden . . . . .	128
4.3.1	Dünnschichtchromatographie . . . . .	128
4.3.2	Präparative HPLC . . . . .	128
4.4	Lichtquellen für die Photoreaktionen . . . . .	129
4.4.1	Rayonet-Reaktor . . . . .	129
4.4.2	UV-Leuchtdiode (UV-LED) . . . . .	129
4.4.3	Laser-Systeme . . . . .	130
4.4.4	Lichtechtheitstest (Suntest) . . . . .	131
4.5	Synthesen . . . . .	133
4.5.1	Heptanoyl-5-Fluoruracil (H5FU) . . . . .	133
4.5.2	Heptanoly-5-Fluoruracil-Homodimere (H5FU-HD) . . . . .	135
4.5.3	Hydrolyse von Heptanoly-5-Fluoruracil syn-hh-Homodimer . . . . .	146
4.5.4	8'-Methylacrylat-8-Heptanoyl-5-Fluoruracil-syn-hh-Homodimer (H5FU- syn-hh-HD-MA) . . . . .	148
4.5.5	4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon (4-COTBS) . . . . .	149
4.5.6	4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon - Heptanoly-5-Fluoruracil-Kreuzdimer (CFKD) . . . . .	151
4.5.7	4-Hydroxychalkon - Heptanoly-5-Fluoruracil-Kreuzdimer (CFKD-OH) . . . . .	156
4.5.8	4-Methacrylatchalkon - Heptanoyl-5-Fluoruracil-Kreuzdimer (CFKD-MA) . . . . .	157
4.5.9	Photochemisch kontrollierte Copolymerisation von (CFKD-MA) an HEMA/MMA-Mischung . . . . .	158
4.5.10	Synthese von 8-Hydroxy-4-methyl-2H- benzo[h]chromen-2-on (BC) . . . . .	159
4.5.11	Synthese von 8-Acetoxy-4-methyl-2H-benzo[h]chromen-2-on (BCA) . . . . .	160

4.5.12	7-Benzoyl-8-(4-(tert-Butyldimethylsilyloxy)phenyl)-8a-methyl-6-oxo-6a,7,8,8a-tetrahydro-6H-benzo[h]-cyclobuta[c]chromen-2-yl acetate-Kreuzdimer (TCKD) . . . . .	162
4.5.13	7-Benzoyl-8-(4-hydroxyphenyl)-8a-methyl-6-oxo-6a,7,8,8a-tetrahydro-6H-benzo[h]cyclobuta[c]chromen-2-yl-acetate- Kreuzdimer (TCKD-OH) . . . . .	167
4.5.14	4-(2-Acetoxy-7-benzoyl-8a-methyl-6-oxo-6a,7,8,8a-tetrahydro-6H-benzo[h]cyclobuta[c]chromen-8-yl)phenyl methacrylat (TCKD-MA) . . . . .	168
4.5.15	Photochemische kontrollierte Copolymerisation von TCKD-MA an HEMA/MMA-Mischung . . . . .	170
4.6	Polymerisation . . . . .	171
4.6.1	Photochemische Polymerisation . . . . .	171
4.6.2	Thermische Polymerisation . . . . .	174
4.7	6-Fluoro-2-heptanoyl-7,7-diphenyl-8-oxa-2,4-diazabicyclo[4.2.0]octane-3,5-dione (BFKD) . . . . .	176
4.8	2-Benzyl-Chinin (CBZ) . . . . .	180
4.9	4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon - 2-Benzyl-Chinin (CCKD) . . . . .	182
4.10	8-butoxy-4-methyl-benzochromen-2-one . . . . .	184
4.11	4-methyl-8-(pentyloxy)-benzochromen-2-one Homodimer (BCH) . . . . .	185
4.12	Steglich-Veresterung von Rhodamin an 8-hydroxy-4-methyl-2H-benzo[h]-chromen-2-one (BC) zu RHO-BC . . . . .	187
4.13	7-Tert-butyldimethylsilyloxy-Coumarin (7-CoumOTBS) . . . . .	189
4.14	Acetic (E)-2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acrylamido)Benzoessäureanhydrid (Tranilastacyl) . . . . .	190
4.15	Acetic 2-(6-(tert-butyldimethylsilyloxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-oxo-2,2a,3,8b-tetrahydro-1H-cyclobuta[c]chromene-2-carboxamido)Benzoessäureanhydrid (TraCoum-KD) . . . . .	192
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>195</b>
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>198</b>
<b>7</b>	<b>Danksagung</b>	<b>211</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Kurzfassung

Katarakt (Grauer Star) ist eine Erkrankung, die durch eine Dysfunktion des Metabolismus im Auge hervorgerufen wird und in Folge dessen zu einer Trübung der Linse führt [1,2].

Über 20 Millionen Menschen haben durch diese Erkrankung ihre Sehkraft verloren [3,4]. Die wesentlichste Behandlungsmethode umfasst die operative Entfernung der natürlichen Linse, die so genannte Extrakapsuläre Katarakt Extraktion (ECCE) und die darauffolgende Implantation einer polymeren Intraokularlinse (IOL) [5,6].

Die am häufigsten vorkommende Komplikation, die in den ersten 3 bis 5 Jahren auftritt und bei 50 % der Patienten beobachtet wird, ist das erneute Eintrüben der IOL, welches als sekundärer Katarakt (Nachstar, oder Posterior Capsule Opacification, PCO) bezeichnet wird [7–10].

Die einzige Behandlungsmethode ist die invasive chirurgische Laserkapsulotomie, bei der der Kapselsack thermisch irreversibel zerstört wird [11].

Die Pathogenese der PCO ist darauf zurückzuführen, dass bei der ECCE Linsenepithelzellen im hinteren Kapselsack verbleiben und durch den Eingriff stark proliferierendes Narbengewebe zurückbleibt [12,13], was zu einer Eintrübung der polymeren Linse führen kann.

Diese Arbeit fokussiert sich auf die Entwicklung polymer basierter Drug-Delivery-Systeme, die auf Basis eines photoinduzierten Stimulus aktiviert werden und infolge dessen den Wirkstoff freisetzen. Der verwendete Wirkstoff, ist bereits durch entsprechende Anwendung zur Behandlung der PCO etabliert [14–18], wobei innovativ das Drug-Delivery-System 5-Fluoruracil (5-FU) als zytotoxisch wirksames Agens enthält. Hierfür bildet 5-FU durch die [2+2]-Cycloadditionsreaktion nach Woodward-Hoffmann mit einen entsprechend Linker Kreuzdimere oder Homodimere, die an das Polymerrückgrat kovalent gebunden werden können.

Dabei wird das Dimer durch photoinduzierte Bestrahlung über eine [2+2]-Cycloreversionsreaktion vom Linker gespalten und durch Diffusion aus der polymeren Matrix freigesetzt. Die [2+2]-Cycloreversionsreaktion kann entweder durch einen Ein-Photon-Absorptionsprozess (SPA) unterhalb von 300 nm, oder durch einen Zwei-Photonen-Prozess (TPA) oberhalb von 300 nm induziert werden. In dieser Arbeit werden Lichtquellen verwendet, die bei 266 nm (SPA) und Licht im Bereich von 532 nm (TPA) emittieren. In früheren Arbeiten wurde Coumarin als Linker-Molekül verwendet [13,19]. Dieses besitzt hervorragende photochemische Eigenschaften, ist aber gegenüber Hydrolysereaktionen instabil, was wiederum die Reinigung der Kreuzdimere erschwert [20]. Aufgrund dessen wurden als alternative Linker-Strukturen Chalkon, H5FU (Heptanoyl-5-Fluoruracil), BCA (4-methyl-2-oxo-2H-Benzo[h]chromen-8-yl acetat) verwendet.

Sechs wesentliche Aspekte bezüglich der Drug-Delivery-Systeme werden in dieser Arbeit untersucht und vorgestellt:

1. Die Etablierung der Synthese der Kreuz- und Homodimere.
2. Charakterisierung der SPA- und TPA-induzierten Spaltungsreaktionen.
3. Etablierung eines polymeren Systems, welches mit einem Kreuz- oder Homodimer funktionalisiert wird und zusätzlich nach DIN ISO Norm mit einem UV-Absorber copolymerisiert wird.
4. Charakterisierung der Freisetzungskinetik des Wirkstoffs aus dem Polymer.
5. Untersuchung der Licht- und thermischen Stabilität der Polymere.
6. Validierung der Reproduzierbarkeit der photoinduzierten Wirkstofffreisetzung aus dem Polymer.

Die Entwicklung von fluoreszierenden Arzneiformen wird schon seit Längerem erfolgreich angewendet, um es z.B. für bildgebende Methoden zu nutzen oder Freisetzungsprofile aus einem Drug-Release-System besser darzustellen, bzw. mögliche physiologische Diffusionsprozesse oder Erkrankungen besser untersuchen zu können [21,22].

In dieser Arbeit wird ein fluoreszierendes Polymersystem vorgestellt, welches basierend auf der Vorschrift der Synthese des Chalkon-H5FU (CFKD)-Polymers erzeugt wurde [23]. Als Linker wurde Chalkon und BCA (8-acetoxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on) als fluoreszierender Farbstoff verwendet.

Wie bei dem CFKD-Polymer wurde die Freisetzung des Fluoreszenzfarbstoffs durch Ein-Photon-Absorptions- oder Zwei-Photonen-Absorptions-Prozesse induziert. Um ein Profil



von dem Diffusionsprozess zu erhalten, wurde die Wirkstoffdiffusion aus dem Polymer nach einer Laser-getriggerten Aktivierung in situ visuell festgehalten.

Neben der [2+2]-Cycloaddition nach Woodward-Hoffmann entstehen bei der photochemisch induzierten Synthese mit dem Rayonet-Reaktor Oxetane zwischen 5-FU und dem Photosensibilisator Benzophenon durch eine [2+2]-Cycloaddition nach Paternò-Büchi. Diese wurden eingehend untersucht und die SPA-induzierte Spaltungsreaktion analysiert. Da 5-FU ein zytotoxisch wirkendes Agens ist <sup>[24]</sup>, wurde ein Wirkstoff gewählt, der aufgrund seines Molekülgerüsts durch photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition einen Cyclobutanring mit einem Linker ausbildet und zum anderen bereits bei der Behandlung der PCO erprobt wurde. Hierfür wurde Tranilast verwendet und erfolgreich ein Kreuzdimer mit dem Linker-Molekül Coumarin via Cycloadditionsreaktion erzeugt.

## 1.2 Abstract

Cataract is an eye disease caused by a dysfunction of the metabolism in the eye, leading to an opacification of the natural lens <sup>[1,2]</sup>. About 20 million people worldwide have lost their vision due to cataract <sup>[3,4]</sup>. The standard treatment is the extracapsular cataract extraction (ECCE), i.e. the implantation of a posterior-chamber intraocular lens (IOL) <sup>[5,6]</sup>.

The most frequent complication arising from this treatment is the posterior capsule opacification (PCO) that occurs in 15 % to 50 % of all cases within three to five years of lens replacement <sup>[7–10]</sup>.

The common treatment of PCO is laser capsulotomy <sup>[11]</sup>, which leads to thermal destruction of the posterior capsular bag <sup>[25]</sup>. Typical complications are retinal detachment and macular oedema <sup>[26]</sup>.

Several experimental studies using drugs such as colchicine, methotrexate, retinoic acid and 5-fluorouracil (5-FU) were used in animal models to treat PCO. The studies showed that 5-FU is one of the most effective cytotoxic drugs <sup>[14–18,27–29]</sup>.

The pathogenesis of PCO is attributed to the persistence and response of lens epithelial cells (LECs) <sup>[30]</sup>. A fibrotic type of PCO can be observed, accompanied by capsular bag contraction. This depends on the proliferation and fibrous metaplasia of interior and equatorial LECs <sup>[12,13,30]</sup>.

In this work, we present a photochemically controlled drug release system of 5-FU homodimers that are formed by a [2+2] Woodward-Hoffmann cycloaddition reaction. In other studies <sup>[19,31]</sup>, coumarin was used as a linker molecule to attach to a polymer backbone.

Thermal and chemical instability of coumarine is the most challenging problem of this linker molecule <sup>[20]</sup>. Because of the instability against hydrolysis, the purification of the cross- and homodimers proved to be difficult; so the main object of this work was to choose a linker that was chemically stable and had excellent photochemical properties. The use of 5-FU as linker as well as a drug to be released solves both problems, allowing its application. The system presented in this study is based on controlled drug release upon activation. A photo-triggered drug delivery is based on a photo-cleavable linker system consisting of a linker molecule and the cytotoxic active drug of 5-fluorouracil (5-FU). This system may be activated by irradiation with wavelengths within a specific range. The photo-triggered drug release is accomplished by a single-photon-absorption (SPA) as well as by two-photon-absorption (TPA) triggered reaction. The drug linker system is cleaved by UV-light in the range below 300 nm, but this wavelength is not able to pass through the cornea. It is, therefore, necessary to deliver the required energy for activation via two photons at higher wavelengths by 532nm.

With regard to the polymeric drug delivery systems, this study is focused on these aspects:

1. The establishment of the synthesis of the cross- and homodimers.
2. Characterization of the SPA and TPA induced cycloreversion.
3. The design of a polymeric system consisting of each homo- or crossdimer, and copolymerization with an UV-Absorber, in accordance with the DIN ISO Norm.
4. Characterization of the controlled drug release from the polymeric system.
5. Investigation into the light and thermal stability of these polymeric systems.
6. Reproducible light-induced drug release.

The utilization of polymer for medical applications loaded with fluorescent nanoparticles or a fluorescent dye is a common method for the imaging of diffusion and delivery of a drug <sup>[21,22]</sup>.

The system presented here follows the principle of photo-controlled triggered release of a fluorescent dye after activation. This system is activated by irradiation with wavelengths within a specific range; the release may be triggered by a single (SPA) or two-photon-absorption process (TPA). Here, we demonstrate the synthesis and characterization of polymer containing a new crossdimer, which consists of 4-tert-butyldimethylsilyloxy-chalcone (COTBS) as photo-cleavable linker and 8-acetoxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-

2-one (BCA) as a fluorescent dye. BCA was directly linked to the COTBS molecule via [2+2]-cycloaddition. This study describes the development of a release system comparable with future work [32,33], containing a reversible crossdimer system. This showed high sensitivity to activation done to visualize the release and diffusion out of a polymer after irradiation by the single-photon and two-photon experiments. The release of the dye was characterized with the help of several spectra methods with regard to diffusion time and the ability to repeatedly activate this system, when required to show the ability of a multi-dose application.

To demonstrate and visualize the activation of the system and the release of the dye, a fluorescence camera was simultaneously used. In addition to the [2+2]-cycloaddition according to the Woodward-Hoffmann rules, oxetanes are obtained, which are formed by the well-known Paternò-Büchi reaction, between 5-FU and the photosensitizer Benzophenone. The analytical experiments could verify this, and a photo-induced reaction by the SPA process could prove the cycloreversion of this system.

Moreover, the application of another antiproliferative drug, Tranilast, was also investigated in this study because of the fact that 5-FU also acts as a cytotoxic drug against healthy tissues. One of the benefits of Tranilast is the antiproliferative effect on highly proliferative fibroblasts or scar tissues [34].

Tranilast was successfully used to prevent PCO [35,36] and demonstrated good results for the prevention with low negative side effects for the patient. Coumarine was used as a linker molecule. Analytical tests proved that crossdimers occurred, showing good photochemical properties created by the SPA-induced [2+2]-cycloreversion reaction.

## 1.3 Pericyclische Reaktionen

Während einer Ringschlussreaktion in einer Steroidsynthese beobachtete R.B. Woodward die Bildung zweier Produkte. Dies waren Stereoisomere, die abhängig von ihrem äußeren Stimulus, durch Temperatur oder photochemisch, gebildet wurden.

R. Hoffmann, ein Theoretiker aus Woodwards Arbeitsgruppe, löste das Problem mit einem quantenmechanischen Ansatz. Um diesen Mechanismus zu klären wählte K. Fukui einen anderen Lösungsansatz, welcher zum gleichen Ergebnis führte. Für die daraus postulierten Woodward-Regeln erhielten beide Forscher 1981 den Nobelpreis [37,38].

Diese Woodward-Hoffmann-Regeln werden angewandt um die Stereochemie der Produkte, die bei diesen pericyclische Reaktionen entstehen, vorherzusagen. In der Regel verläuft diese Art von Reaktionen stereoselektiv. Es sind Reaktionen, die konzertiert,

d.h. nicht über Zwischenstufen verlaufen.

Es gibt zwei Ansätze, um pericyclische Reaktionen zu definieren:

i) Die formale Definition, wenn Bindungsbruch und Bindungsbildungen konzertiert verlaufen. Das bekannteste Beispiel hierfür ist die  $[4+2]$ -Cycloaddition, die auch als Diels-Alder-Reaktion bekannt ist (Abb. 1.1). Dabei kommt es zu einer konzertierten Überlagerung von drei  $\pi$ -Elektronenpaare, wobei zwei neue  $\sigma$ -Bindungen zwischen dem Dien und dem Dienophil entstehen.

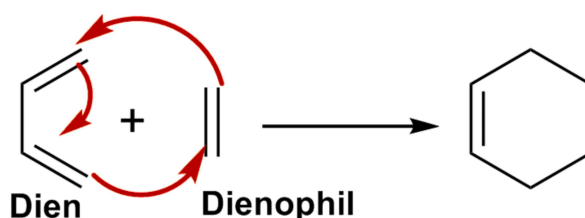
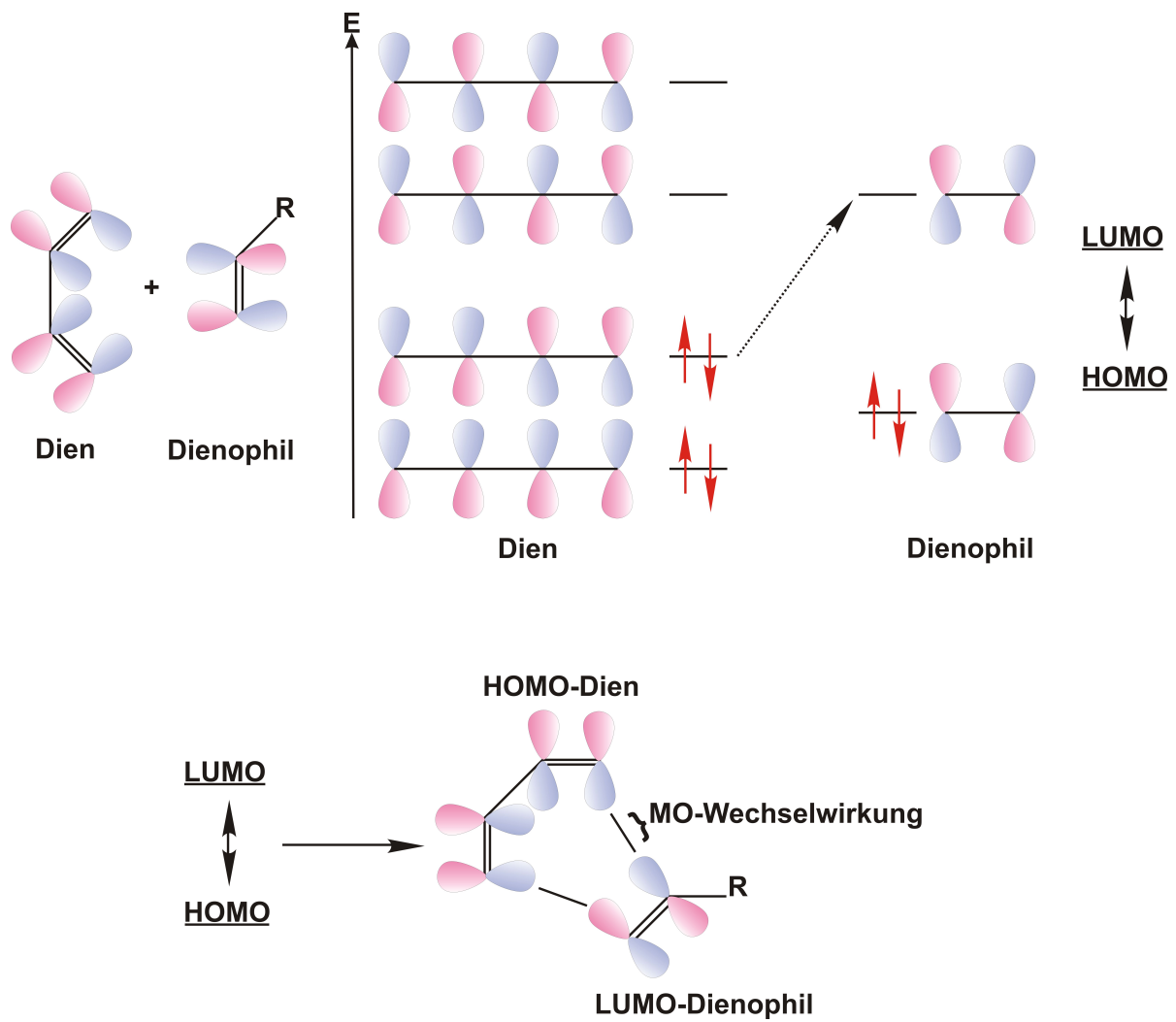


Abbildung 1.1:  $[4+2]$ -Cycloaddition nach Diels-Alder.

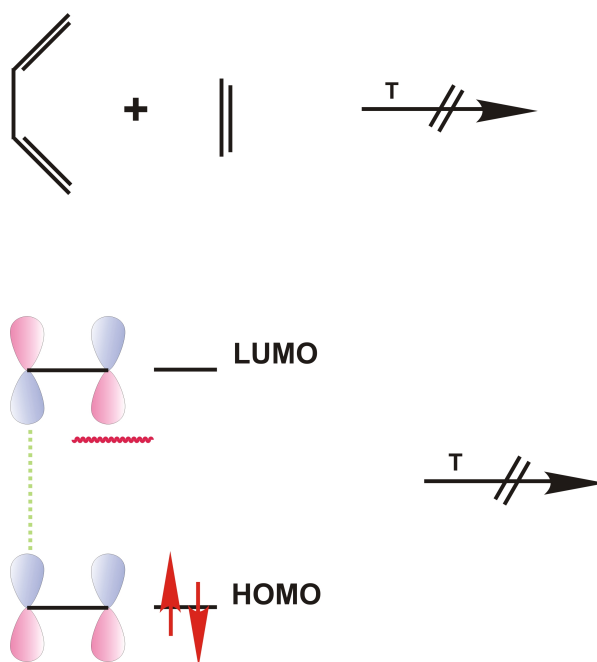
ii) Die zweite Definition beschreibt die theoretische Ebene, mit der man den Übergangszustand definiert, wobei sich ein cyclisch konjugiertes System ausbildet.

Pericyclische Reaktionen werden vorwiegend durch Temperaturerhöhung oder photochemisch induziert <sup>[39]</sup>. Die  $[4+2]$ -Cycloaddition wird durch die Symmetrie und der energetischen Lage der angrenzenden Orbitale der beteiligten Edukte gesteuert. Dabei gilt zu beachten, dass das höchst besetzte Molekülorbital (HOMO: Highest Occupied Molecule Orbital) des Diens mit dem energetisch niedrigsten unbesetzten Molekülorbitale (LUMO: Lowest Unoccupied Molecule Orbital) wechselwirkt. Dies ist bei der Diels-Alder-Reaktion nur möglich, wenn sich die Molekülorbitale energetisch ähneln.



**Abbildung 1.2:** Schematische Darstellung der Übergangswahrscheinlichkeiten der Edukte

Diese Regel gilt allerdings nicht für die  $[2\pi+2\pi]$ -Cycloaddition. In diesem Fall ist die Interaktion zwischen HOMO und LUMO im Beispiel von Ethen (Abb. 1.3) symmetrieverboten, wenn die Reaktion thermischer Natur ist.



**Abbildung 1.3:** Thermische verbotene [2+2]-Cycloaddition

Bei Betrachtung der möglichen HOMO-LUMO-Wechselwirkungen zwischen beiden Ethen-Molekülenorbitalen, wird deutlich, dass keine passende Wechselwirkungs-Kombination zwischen den Molekülorbitalen zustande kommt, da immer ein bindendes mit einem nichtbindenden Molekülorbital wechselwirkt. Infolge dessen ist die thermisch induzierte [2+2]-Cycloaddition nicht möglich.

Allerdings reagieren beide Ethenmoleküle miteinander, wenn eines der beiden Moleküle photochemisch angeregt wird. Dabei wird ein Elektron des HOMO-Zustands in den LUMO-Zustand angeregt. Dadurch resultieren zwei SOMOs (Single Occupied Molecule Orbital). Das daraus entstandene SOMO kann mit dem Ethenmolekül im Grundzustand durch entsprechende Wechselwirkungen eine neue Bindung eingehen.

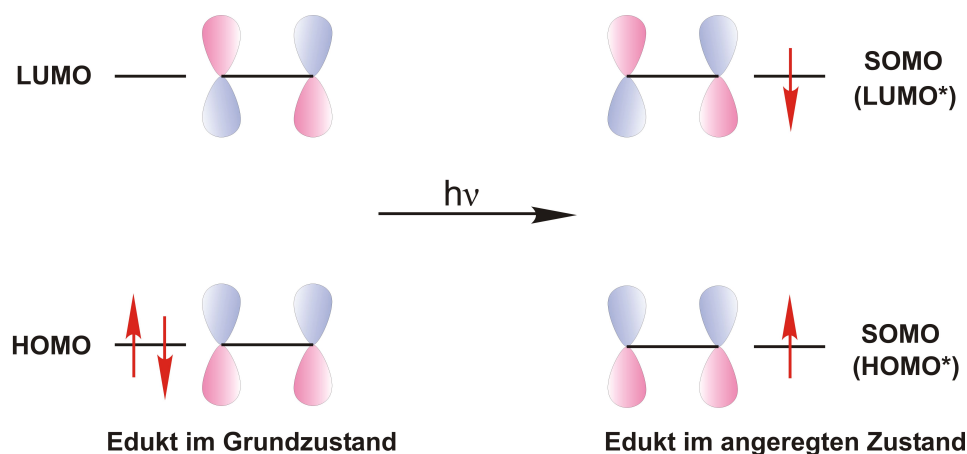
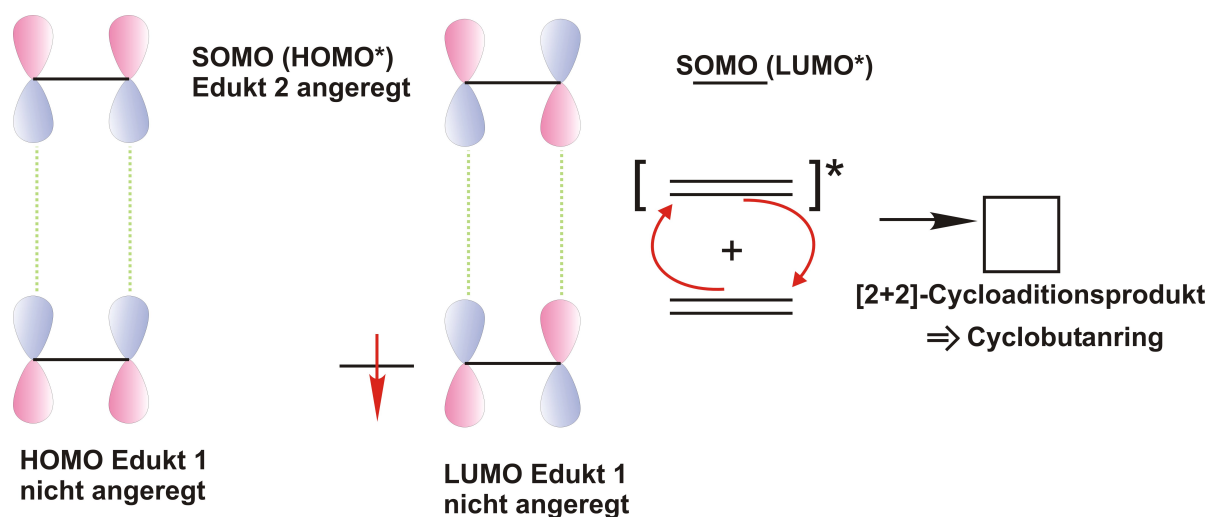


Abbildung 1.4: Photochemische Anregung

Das Kreuzdimer (entwickelt von Frau Dr. Liese) mit dem das Polymer thermisch funktionalisiert wurde, konnte nicht thermisch sterilisiert werden <sup>[23,32]</sup>, da H5FU aus dem Polymer ohne photoinduzierten Stimulus freigesetzt wurde. Einschlägige Untersuchungen zeigten anhand von EPR-Experimenten, dass während der thermischen Behandlung dieses Kreuzdimer über radikalische Zwischenstufen gespalten wurde.

D.h., dass trotz der als verboten postulierten Reaktionen eine thermisch induzierte [2+2]-Cycloreversion an diesem Molekül möglich ist <sup>[23,32]</sup>. Zwei mögliche Interaktionen zwischen dem photochemisch angeregten Molekül und dem im Grundzustand können stattfinden.

Zum einen kann das HOMO des Moleküls, das im Grundzustand verweilt, auf dem SOMO wechselwirken. Zum anderen ist es auch möglich, dass das LUMO, das sich im Grundzustand befindet, mit dem SOMO des angeregten interagiert. Aus diesen möglichen Wechselwirkungen resultieren zwei neue  $\sigma$ -Bindungen (Abb. 1.5).



**Abbildung 1.5:** Schematische Darstellung der photochemisch induzierten [2+2]-Cycloaddition nach Woodward-Hoffmann.

Die [2+2]-Cycloreversionsreaktion ist eine entsprechende Umkehrung der Reaktionsrichtung der Cycloaddition und unterliegt dadurch denselben Regeln.

Die kurzlebigen Triplettzustände, die bei der photochemisch induzierten Cycloaddition entstehen, können durch sogenannte Photosensibilisatoren wie Benzophenon, Aceton oder dem Phenyl<sup>[40]</sup> stabilisiert werden. Dadurch ist dieser Zustand langlebig, was wiederum zu einer nachweislich höheren Ausbeute der Photoreaktion führt und dadurch ihre Effektivität erhöht<sup>[41]</sup>.

Diese Photosensibilisatoren zeichnen sich durch eine hohe ICE (Intersystem-Crossing Energy)-Quantenausbeute aus. D.h., sie übertragen ihre Triplett-Energie auf die angeregten Edukte, wodurch diese in den angeregten Zustand übergehen.

Es kann durchaus passieren, dass durch diese Energieübertragung 1,4-Biradikale-Zustände auftreten<sup>[42]</sup>. Allerdings verlaufen diese Reaktionen nicht konzertiert, was sich wiederum auf ein anderes Isomerenverhältnis auswirkt<sup>[43,44]</sup>.



## 1.4 Photonen induzierte [2+2]-Cycloreversion

Um die [2+2]-Cycloreversion zu induzieren wird Licht des Wellenlängenbereichs  $< 300$  nm benötigt. Dies würde die photoinduzierte Spaltung des gebildeten Cyclobutanrings durch einen Ein-Photonen-Absorptionsprozess (SPA) beschreiben.

Die Reversion kann alternativ bei Wellenlängen  $> 300$  nm stattfinden. Dann wird der Zwei-Photonen-Absorptionsprozess (TPA) durchlaufen <sup>[45,46]</sup>.

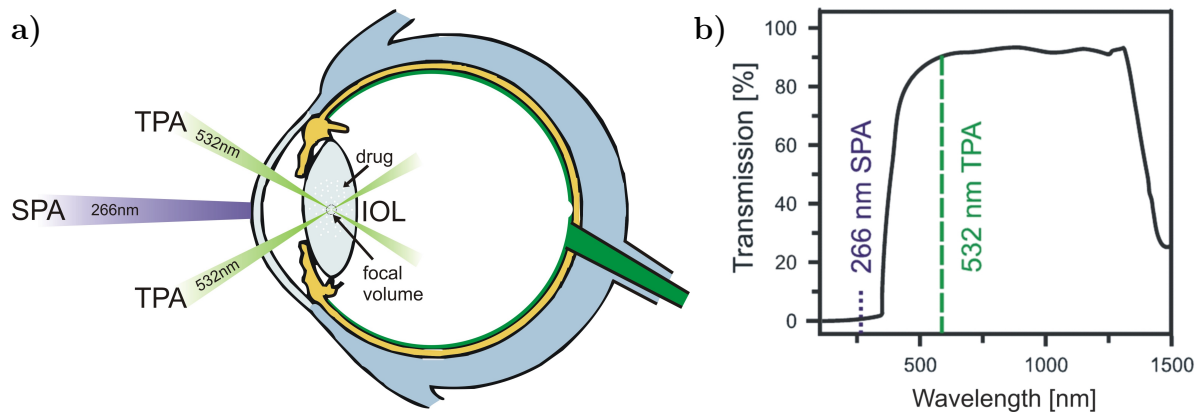
Für die Freisetzung des Wirkstoffs aus dem funktionalisierten Polymer wird vorwiegend die Variante der TPA-induzierten [2+2]-Cycloreversionsreaktion genutzt. Dabei ist zu beachten, dass die nötige Energie sowohl aus einem SPA- als auch aus einem TPA-Prozess bezogen werden kann.

Die erste Photodimersierung wurde 1902 von Silber et al. <sup>[47]</sup> anhand des Coumarins durchgeführt. Weitere Untersuchungen ergaben, dass bei der Photodimersierung des Coumarins nicht nur ein Dimer entstand, sondern drei weitere Isomere, deren Charakterisierung von Krauch et al. durchgeführt wurden <sup>[48]</sup>.

Von einem Ein-Photonen-Prozess wird allgemein gesprochen, wenn ein lichtinduzierter Prozess vorliegt.

Damit es zur Absorption kommt, muss die Energie des eingestrahlten Photons dem Energieunterschied der zwei Zustände entsprechen, die überwunden werden müssen, damit die Spaltungsreaktion stattfinden kann.

Wie in dieser Arbeit beschrieben, werden das Homo- bzw. Kreuzdimer, die über den Linker kovalent an das Polymerrückgrat gebunden sind, nur mit einer bestimmten Wellenlänge aktiviert. Da sowohl die Homo- als auch die Kreuzdimere in der Regel eine Lichtabsorption im Bereich 266 nm zeigten, wurde diese für den SPA-Prozess gewählt. Da das Auge durch die Cornea vor UV-Strahlung geschützt ist und nur für Wellenlängen im Bereich zwischen 360 nm und 800 nm durchlässig ist, wurde der Lichtechtheitstest nach DIN ISO 11975-5 durchgeführt (Abb. 1.6) <sup>[49,50]</sup>.



**Abbildung 1.6:** a) Wellenlängenbereich der SPA- bzw TPA-induzierten Wirkstofffreisetzung, b) Transmissionsspektrum der Hornhaut [23].

Das Drug-Delivery-System kann infolge dessen nur in diesem Bereich aktiviert werden. Daher wird sich der TPA-induzierten [2+2]-Cycloreversion bedient.

Der Prozess der TPA-induzierten Photochemie wurde 1931 als erstes von Maria Goeppert-Meyer beschrieben [51].

Aufgrund fehlender geeigneter Lichtquellen konnte diese Theorie erst 31 Jahre später bestätigt werden [52]. Wolfgang Kaiser und Charles G.B. Garrett berichteten 1961 erstmals über einen Zwei-Photonen-Prozess in  $\text{CaF}_2:\text{Eu}^{2+}$  [53].

Der Vergleich der Übergangswahrscheinlichkeiten von SPA zu TPA zeigten, dass der TPA-Querschnitt (Goeppert-Meyer-Koeffizient  $1 \text{ GM} = 1 \times 10^{-50} \text{ cm}^4 \times \text{s} \times \text{Photon}^{-1}$ ) ca. 30 Größenordnungen kleiner ist als der des Ein-Photonen-Querschnitts ( $1 \times 10^{-20} \text{ cm}^2 \times \text{s} \times \text{Photon}^{-1}$ ). Allgemein gilt, dass der Absorptionsquerschnitt sich auf die Übergangswahrscheinlichkeit eines Moleküls bezieht [40].

Bereits 1978 wurden durch Parma und Omnetto Fluoreszenzexperimente mit Zwei-Photonen-Absorptionen Natur durchgeführt, um die TPA-Querschnitte für verschiedene Wellenlängen im Bereich zwischen 510 nm bis 650 nm zu bestimmen [54].

Allgemein gilt für die TPA, dass zwei Photonen von dem Dimer-Molekül absorbiert werden, die zusammen der Energiedifferenz des Übergangs entsprechen müssen.

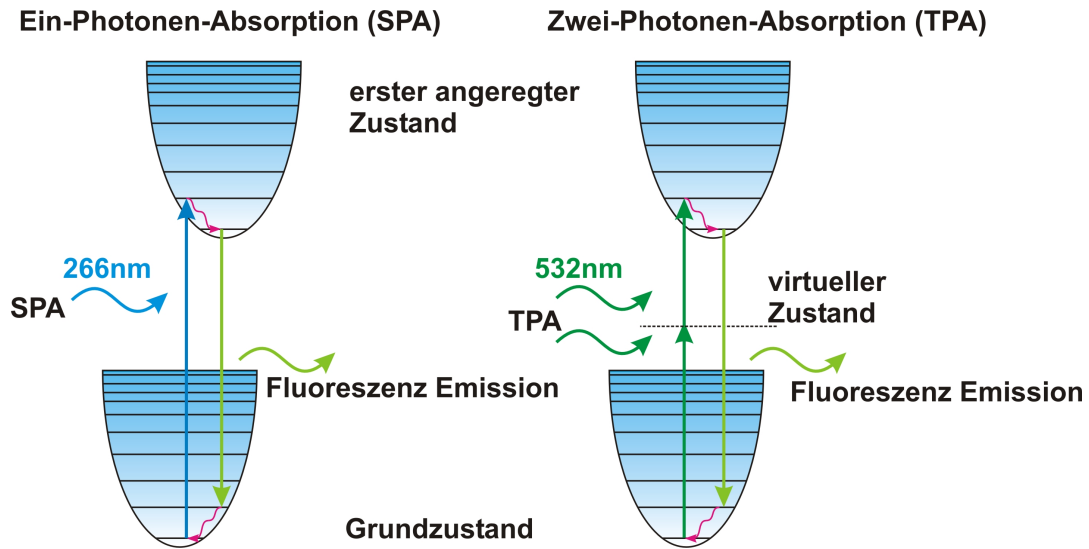
Zunächst wird das System durch das erste eintreffende Photon in ein nicht-resonantes, virtuelles und kurzlebige Zwischenniveau angeregt und von dort aus durch das zweite Photon, welches zeitgleich eintrifft, auf das erforderliche Energieniveau gebracht.

Damit der Übergang stattfinden kann, ist eine hohe Photonendichte nötig, die durch den Laser-induzierten TPA-Prozess erreicht wird. Der Übergang beim TPA-Prozess hat

sehr geringe Lebensdauern von  $10^{-17}$  bis  $10^{-15}$  s, dies ist auch der Grund für die hohe Photonendichte, die nur durch kurz gepulste Laser-Systeme erzeugt werden kann.

Es gibt zwei Varianten, wie die Energie der Photonen gegliedert ist. Die eine wäre, dass die ausgesendeten Photonen jeweils die halbe Energie des Übergangs besitzen, oder sie haben zwei unterschiedliche.

Wichtig ist, dass die Summe beider Energien der Energiedifferenz entsprechen, um den Übergang zu ermöglichen.



**Abbildung 1.7:** Schematische Energieübergänge während SPA- und TPA-Prozessen.

Die Übergangswahrscheinlichkeit eines TPA-Prozesses ist von der Lichtintensität abhängig und wird mit folgender Gleichung beschrieben:

$$\frac{W_{TPA}}{dt} = \frac{8\pi^2\omega}{n^2c^2} I^2 \text{Im}(x^{(3)}) \quad (1.1)$$

$\omega$  = optische Frequenz

$n$  = Brechungsindex

$c$  = Lichtgeschwindigkeit

$I$  = Intensität

$\text{Im}(x^{(3)})$  = imaginärer Teil des Suszeptibilitätstensors 3. Ordnung

Wird diese Gleichung vereinfacht ausgedrückt und auf der rechten Seite auflöst, dann hängt diese von der Intensität ab.

$$W_{TPA} \propto I^2 \quad (1.2)$$

Dass die Übergangswahrscheinlichkeit vom Quadrat der Intensität, und nicht wie beim SPA-Prozess linear abhängig ist, liegt am Zusammenhang zwischen der Photonendichte und der Übergangswahrscheinlichkeit. Voraussetzung für ein Übergang ist ein Überlappen der räumlichen und zeitlichen Komponente der Wellenfunktion beider Photonen. Auf die Anwendung bezogen heißt das, dass lediglich im Laserfokus die Photonendichte zeitlich und räumlich für eine erforderliche Überlappung groß genug ist. Dies bedeutet für die Photonendichte, dass diese Bedingungen nur unmittelbar im Laserfokus eingehalten werden können.

Ob eine lichtinduzierte Spaltungsreaktion über einen Zwei-Photonen-Prozess verläuft, kann durch doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten von verschiedenen Pulsintensitäten ermittelt werden <sup>[45]</sup>. Für die Reaktion wird eine hohe Konzentration an zu spaltenden Dimer-Molekülen gewählt, um zu garantieren, dass alle einstrahlenden Photonen absorbiert werden <sup>[45]</sup>.

Allgemein gilt bei einem Zwei-Photonen induzierten Prozess, dass die Steigung nach Gleichung 1.4 bestimmt wird.

$$d[c] = v_0 = \sigma \times c_0 \times I^2 \times \Phi_{SPA} = k \times I^2 \quad (1.3)$$

$$\ln v_0 = \ln k + 2 \ln \frac{I}{I_0} \quad (1.4)$$

$c$  = Konzentration des Monomers wie z.B. des Linkermoleküls

$c_0$  = Ausgangskonzentration an Dimer

$\sigma$  = Zwei-Photonen-Querschnitt

$\Phi_{SPA}$  = Ein-Photonen-Quantenausbeute

Mit welcher Wahrscheinlichkeit ein TPA-Übergang im Molekül stattfindet, wird über den Zwei-Photonen-Querschnitt  $\sigma$  ermittelt.

Zunächst muss dafür die Photonendichte  $n_{Phot}$  ermittelt werden. Dafür muss die Lichtintensität des Lasers aus der Pulsernergie  $P$  und der Pulslänge  $\tau$  bestimmt werden.

$$I = \frac{P}{\tau} \left[ \frac{J}{s} \right] \quad (1.5)$$

Aus der Intensität kann über die Energie eines Photons bei  $\lambda=532$  nm die Anzahl  $n_{Phot}$  der eingestrahlten Photonen bestimmt werden.

$$E_{532nm} = h \times v = h \times \frac{c}{\lambda} \quad (1.6)$$

$$n_{Phot} = \frac{I}{E_{532nm}} \left[ \frac{1}{s} \right] \quad (1.7)$$

Dabei ist zu beachten, dass die Photonenzahl auf die Fläche, die bestrahlt wird, bezogen werden muss. Daraus resultiert der Photonenfluss  $F$ .

$$F = \frac{n_{Phot}}{A} \left[ \frac{1}{s \times cm^2} \right] \quad (1.8)$$

Zur Ermittlung des TPA-Querschnitts für eine bestimmte [2+2]-Cycloreversion werden die Anfangsgeschwindigkeiten wie auf Seite 15 beschrieben bei verschiedenen Intensitäten bestimmt. D.h., durch die Laser-induzierte Spaltungsreaktion kann eine Änderung der Monomerkonzentration spektroskopisch verfolgt werden.

Für dieses Phänomen wird der  $n$ - $\pi$ -Übergang in der Carbonylgruppe genutzt. Die Konzentration wird durch Einsetzen in das Lambert-Beersche Gesetz bestimmt.

Bei der Berechnung ist zu beachten, dass sich die effektive Belichtungszeit des Lasers aus der jeweiligen Frequenz und der Pulslänge (3 ns) des Lasers berechnet. Bei einer Pulsfrequenz von 40 Hz wären das z.B.  $1,2 \times 10^{-7}$  s.

Über die Anfangsgeschwindigkeit kann anschließend die Anzahl der gespaltenen Cyclobutanringe  $n_{cyclo}$  bestimmt werden.

$$n_{cyclo} = v_0 \times V_{Lsg} \left[ \frac{mol}{s} \right] \quad (1.9)$$

Zu beachten ist bei der Berechnung der effektiv gespaltenen Moleküle  $n_{eff}$ , dass durch den Laserfokus nur eine begrenzte Fläche der Küvette durchstrahlt wird. Der Laserstrahl hat einen Durchmesser von  $d=5,5$  mm. Dabei beträgt die bestrahlte Fläche aufgrund des Flat-Top Profils des verwendeten Laser  $A=0,237$  cm<sup>2</sup>, wenn dies auf die mögliche Belichtungsfläche der 4-Fenster Quarzglasküvette übertragen wird, wird ein Volumen von  $V_A=0,237$  cm<sup>3</sup> bestrahlt.

$$n_{eff} = \frac{n_{cyclo}}{V} \left[ \frac{mol}{s \times L} \right] \quad (1.10)$$

Der aus der Gleichung 1.10 ermittelte Wert für  $n_{eff}$ , wird anschließend auf die, zu Beginn der Spaltungsreaktion zum Zeitpunkt  $t=0$ , vorliegende Anzahl der Cyclobutanringe bezogen [51, 55].

$$\sigma = \frac{n_{eff}}{\Phi_{SPA} \times c_o \times F^2} \left[ \frac{1}{s \times cm^4} \right] \quad (1.11)$$

## 1.5 Ein-Photonen- und Zwei-Photonen-Experimente

Zur Bestimmung der SPA wurde eine Lösung mit einer hohen Konzentration an Dimer-Molekülen in Acetonitril hergestellt.

Die Lösung wurde in eine 4-Fensterquarzglasküvette gegeben und mit einer LED vom Typ UV-LUX, die in die Küvettenhalterung im UV/Vis-Gerät eingebaut ist, bestrahlt. In bestimmten Zeitabständen wurde ein UV/Vis-Spektrum aufgenommen, um die Änderung der Monomerkonzentration zu verfolgen und diese durch Differenzspektren zu bestimmen.

Um die SPA-Quantenausbeute zu ermitteln, wurde über den Extinktionskoeffizienten des Monomermoleküls die Anfangskonzentration  $c_0$  bestimmt und gegen die Bestrahlungszeit aufgetragen, um die Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  zu ermitteln <sup>[56]</sup>. Der Extinktionskoeffizient wird bei einer Wellenlänge gewählt, bei der das Edukt eine charakteristische Bande aufweist, die durch die [2+2]-Cycloadditions bedingte Cyclobutanringbildung reduziert und durch die Cycloreversion stetig ansteigt. Allgemein wird angenommen, dass alle eingestrahnten Photonen absorbiert werden.

Die Anzahl der effektiv gespaltenen Dimer-Moleküle  $n_{eff}$  im bestrahlten Volumen, setzt sich wie folgt zusammen:

$$V_{eff} = \frac{n_{eff}}{\Phi_{SPA} \times c_0 \times F^2} \left[ \frac{1}{s \times cm^4} \right] \quad (1.12)$$

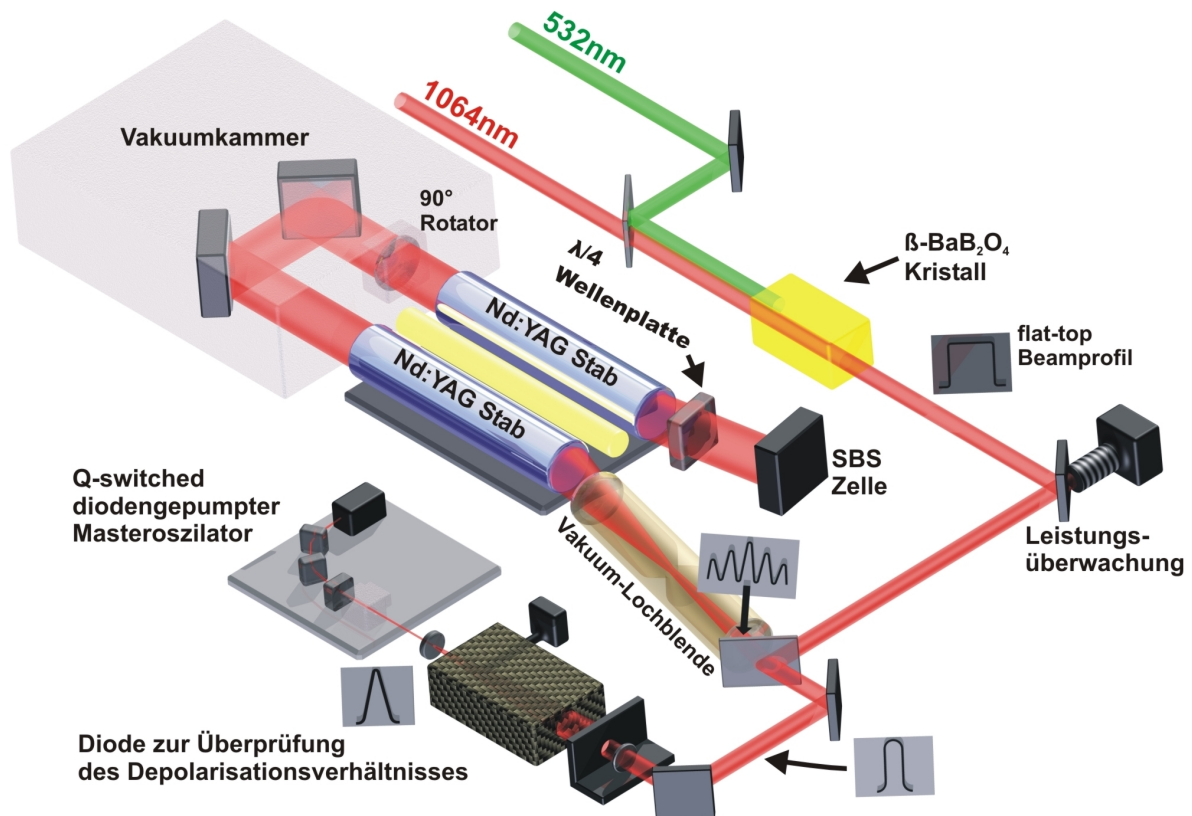
Die Anzahl der Dimere und Photonen werden durch nachfolgende Gleichungen bestimmt.

$$n_{Mol} = v_0 \times V \times N_A \quad (1.13)$$

$$n_{Phot} = \frac{E_{Leistung}/cm^2}{E_{266nm}} = \frac{E_{Leistung}/cm^2}{5,1 \times 10^{-19} J \times s} \quad (1.14)$$

$$\phi_{266nm}^{SPA} = \frac{n_{Mol}}{n_{phot}} \quad (1.15)$$

Für die TPA-Messung wurden die Dimer-Moleküle in Acetonitril gelöst und eine gleiche Konzentration gewählt. Die Lösung wurde in eine 4-Fensterglas-Küvette gegeben und mit einer Pulslänge von 3 ns bei 532 nm mit einem Nd:YAG-Laser des Typs Infinity der Firma Coherent bestrahlt.



**Abbildung 1.8:** Schematischer Aufbau und Verlauf des Laserstrahls des Infinity-Lasers.

Dieser setzt sich aus einem 4-Niveau, GaAs-Dioden gepumpten und Güte-geschalteten Ringlaser zusammen. Zunächst generiert dieser einen 8 ns langen gausförmigen Puls. Anschließend werden durch nachgeschaltete Nd:YAG-Stäbe, wobei einer davon Blitzlicht gepumpt ist, Lichtpulse erzeugt, die ein Flat-Top Intensitätsprofil aufweisen. Der erzeugte Lichtpuls durchläuft die Nd:YAG-Stäbe wie in Abb. 1.8 gezeigt zweimal. Die integrierte Lochblende sorgt dafür, dass die Hintergrundemission unterdrückt wird und dadurch Abbildungen resultieren, die eine höhere Ordnung vorweisen. Dadurch, dass das einfallende Laserlicht vor dem Nd:YAG-Stab durch 90°-Drehung der Polarisationssebene gedreht wird, werden thermisch induzierte Doppelbrechungen und die daraus resultierenden Phasenverschiebungen kompensiert.



Der Q-Switched Dioden gepumpte Oszillator sorgt dafür, dass eine Pulslänge von 3 ns erhalten wird.

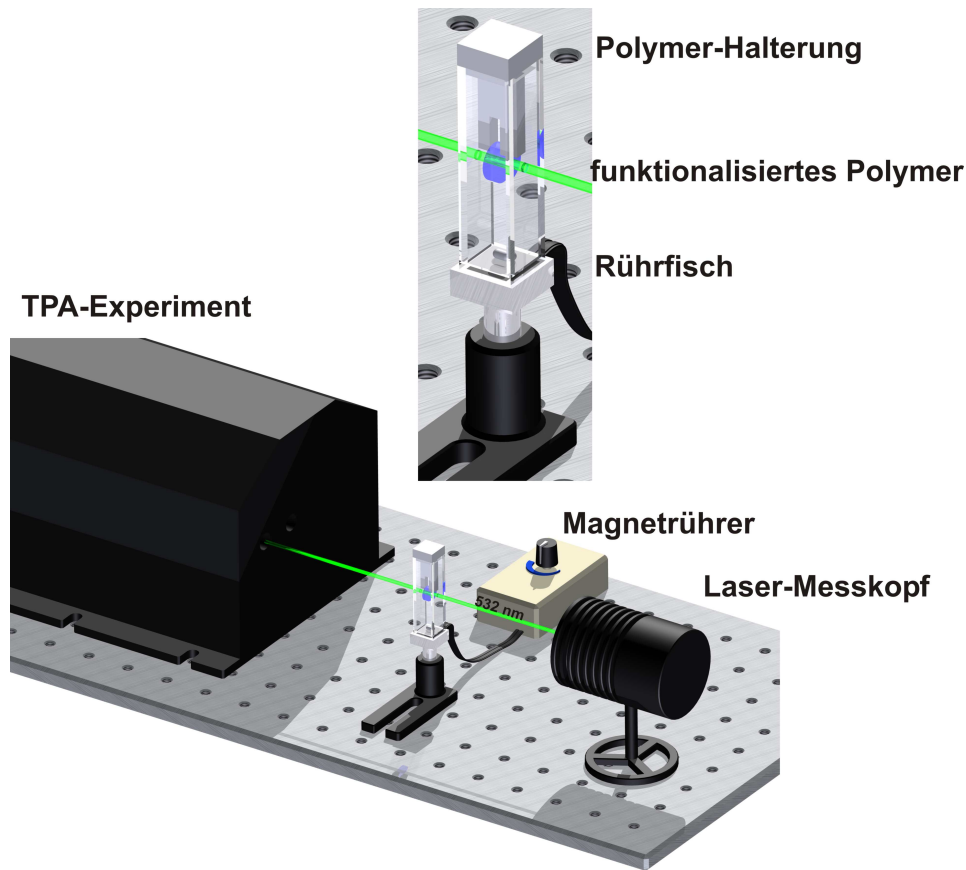
Hinter dem zweiten Nd:YAG-Stab ist eine SBS-Zelle geschaltet. Diese ist ein phasenkonjugierter Spiegel, der sich durch einen hohen Reflexionsgrad auszeichnet, der von der Brillouin-Streuung in den Glasfasern herrührt und dadurch die optische Phasenkonjugation erzeugt [57].

Das Laserlicht wird durch den Spiegel reflektiert und lässt ihn denselben Weg mit invertierten Wellenfronten zurücklaufen. Dadurch werden Phasenstörungen des ersten Durchlaufs eliminiert.

Die  $\lambda/4$ -Wellenplatte die direkt hinter der SBS-Zelle und vor dem zweiten Nd:YAG-Stab geschaltet ist, dreht den Lichtstrahl um  $90^\circ$ . Der austretende Strahl wird durch einen Spiegel in einen  $\beta$ -BaB<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Kristall umgeleitet, sodass die IR-Strahlung bei 1064 nm frequenzverdoppelt wird und Laserpulse der Wellenlänge von 532 nm erzeugt werden, die durch einen weiteren Spiegel von der IR-Strahlung getrennt werden.

Diese Frequenzverdopplung ist ein Resultat, die bei der nichtlinearen Optik bei hohen Lichtintensitäten beobachtet wird [52]. Somit können bei 532 nm Pulsfrequenzen von bis zu 100 Hz und Pulsenergien von bis zu 250 mJ erhalten werden.

Der Verlauf der Spaltungsreaktion wurde durch die UV/Vis-Spektroskopie verfolgt und die Konzentration an freigesetztem Monomer über das Lambert-Beersche Gesetz berechnet. Die Probe wurde während der Bestrahlung stets gerührt, um eine homogene Durchmischung zu gewährleisten (Abb. 1.9). Hierbei wurden die Dimere mit einer Pulsfrequenz von 20 oder 40 Hz bestrahlt.



**Abbildung 1.9:** Versuchsaufbau der TPA-induzierten Wirkstofffreisetzung.

Die Absorptionsänderung einer spezifischen Eduktbande, die durch die [2+2]-Cycloreversionsreaktion ansteigt, wird via UV/Vis-Messung verfolgt.

Durch den bekannten Extinktionskoeffizienten der ansteigenden Absorptionsbande, wird die Konzentration berechnet. Aus der Anfangskonzentration kann durch das Auftragen gegen die Bestrahlungszeit die Anfangsgeschwindigkeiten der Reaktion für die unterschiedlichen Energien ermittelt werden. Dabei ist zu beachten, dass pro Substanz mindestens vier Messreihen bei unterschiedlichen Pulsenergien durchgeführt werden müssen.

## 1.6 Strategien der Wirkstofffreisetzung aus Polymeren

Die kontrollierte Wirkstofffreisetzung aus funktionalisierten Polymeren stellt eine der am fortschrittlichsten entwickelten Systeme der Wissenschaft dar.

Dadurch, dass die neuen Polymermaterialien biokompatibel sind, haben sie im Vergleich zu den konventionellen Freisetzungssystemen viele Vorteile.

Dabei sind eine bessere Effektivität, eine geringere Toxizität und eine bessere Compliance der Patienten zu erwähnen. Dadurch fällt eine regelmäßige Arzneimiteleinnahme weg und die Anwendung gestaltet sich für den Patienten angenehmer [58].

Dieser Bereich der pharmazeutischen Technologie hat einen hohen Stellenwert in den letzten Jahren eingenommen.

Die funktionalisierten Polymersysteme setzen durch verschiedene Mechanismen den Wirkstoff kontrolliert frei (Abb. 1.10).

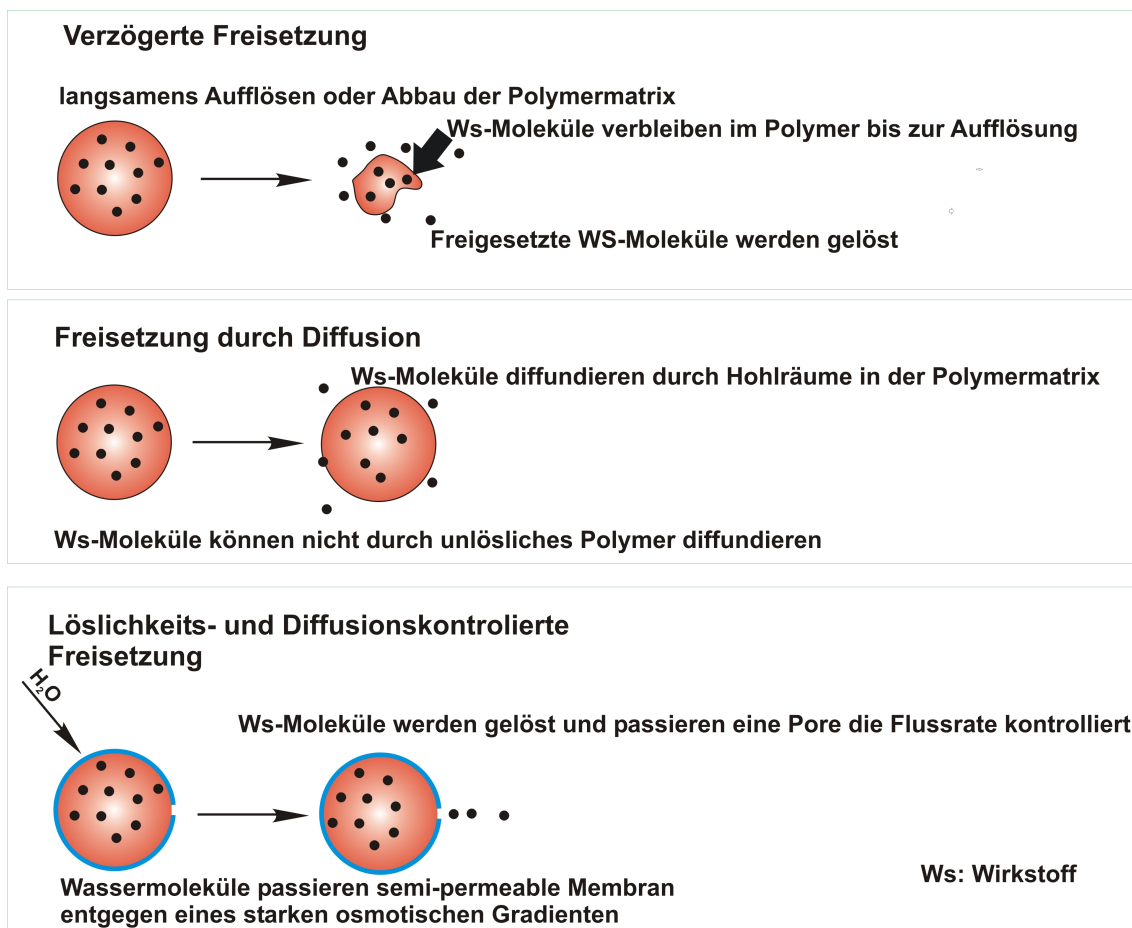


Abbildung 1.10: Beispiele für kontrollierte Freisetzungssysteme.

Das Ziel dieser Systeme ist die Effektivität der konventionellen Arzneimitteltherapie zu steigern <sup>[59,60]</sup>. Die Vorteile dieser Systeme liegen in einer hohen therapeutischen Aktivität, d.h. durch Einbringen des Polymers am Zielort kann gezielt der Wirkstoff freigesetzt werden. Dadurch werden unerwünschte Nebenwirkungen auf das gesunde Gewebe oder im Allgemeinen auf den Kreislauf deutlich reduziert.

Komplizierte Arzneimittelgaben wie wöchentliche Injektionen oder die täglich topische, orale Anwendung, könnten dadurch reduziert werden.

Generell wird zwischen zwei Arten der Wirkstofffreisetzung unterschieden, **i)** der zeitlich kontrollierten und **ii)** der durch die Distribution kontrollierten <sup>[58]</sup>.

## 1.7 Prinzipien der kontrollierten Freisetzung

Durch verschiedene physiologische Transportprozesse gelangt ein Wirkstoff an einen Zielort, wie z.B. Diffusion, Osmose oder aktive Transportwege. Allerdings kann es sein, dass nicht nur das Zielgewebe durch den Wirkstoff, sondern auch gesundes Gewebe angegriffen wird. Dieses Phänomen findet man häufig in der Chemotherapie. Dort wird auch gesundes Gewebe von den zytotoxisch wirkenden Agenzien angegriffen und irreversibel geschädigt <sup>[61,62]</sup>.

Ein weiteres Beispiel für Distribution ist, dass ein Wirkstoff auf Grund seiner molekularen Struktur nur an dem gewünschten Zielort aktiv ist. Dazu zählt z.B. Levodopa, ein Prodrug, d.h. ein Wirkstoff, der erst durch physiologischen Abbau in die aktive Form übergeht.

Er wird zur Behandlung der Parkinson-Krankheit eingesetzt. Passiert Levodopa die Blut-Hirn-Schranke (BHS), wird es in sein aktiv wirkendes Pendant, dem Dopamin, umgewandelt. Um einen Abbau außerhalb des Liquorraums zu verhindern wird ein Decarboxylase-Hemmer oder ein O-Methyl-Transferase-Hemmer hinzugegeben.

Eine Vielzahl von Therapeutika bedienen sich dieser kontrollierten Freisetzung, sei es aus der Wirkstoffgruppe der Chemotherapeutika <sup>[63,64]</sup>, der Immunsuppressiva <sup>[65]</sup>, Opiod-Antagonisten <sup>[66]</sup>, Hormone <sup>[67]</sup> oder Impfstoffe <sup>[68]</sup>.

Nicht nur Prodrugs zählen zu solchen kontrollierten Systemen. Oft werden die Wirkstoffe an ein Polymerrückgrat gebunden. Funktionalisierte Polymersysteme werden seit Jahren als kontrollierte Wirkstofffreisetzungssysteme verwendet, welche auf der zeitlich kontrollierten und der distributionskontrollierten Freisetzung basieren.

Es gibt verschiedene Anwendungen von wirkstoffbeladenen Polymersystemen, die erst in bestimmten Abschnitten im Körper wie den Dünndarm oder dem Dickdarm den Wirkstoff freisetzen, aber keinen Einfluss auf die körpereigene Physiologie haben, wodurch die Polymere wieder ausgeschieden werden [69,70].

Bei der temporal kontrollierten Freisetzung schützt das Polymer den Wirkstoff vor der Umgebung, damit dieser erst am Zielort gelöst wird.

Dazu zählen z.B. Wirkstoffe, die an Polyacrylate gebunden sind und einer zeitlich kontrollierte Freisetzung unterliegen [71] oder für topische Anwendungen geeignet sind [72]. Aber auch andere Polymere wie Polyurethane [73,74] oder Polyethylenglykole [75–77] werden für etwaige Formulierungen verwendet.

Dieser Schutz des Wirkstoffs kann durch eine verzögernde Löslichkeit der Arzneimittelmoleküle zu einer verzögernden Freisetzung der sogenannten sustained drug release führen. Das Polymer kann als semipermeable Membran dienen, um die Löslichkeit der Wirkstoffmoleküle und damit den Diffusionsfluss aus dem Polymer zu limitieren (Abb. 1.10 c) [78].

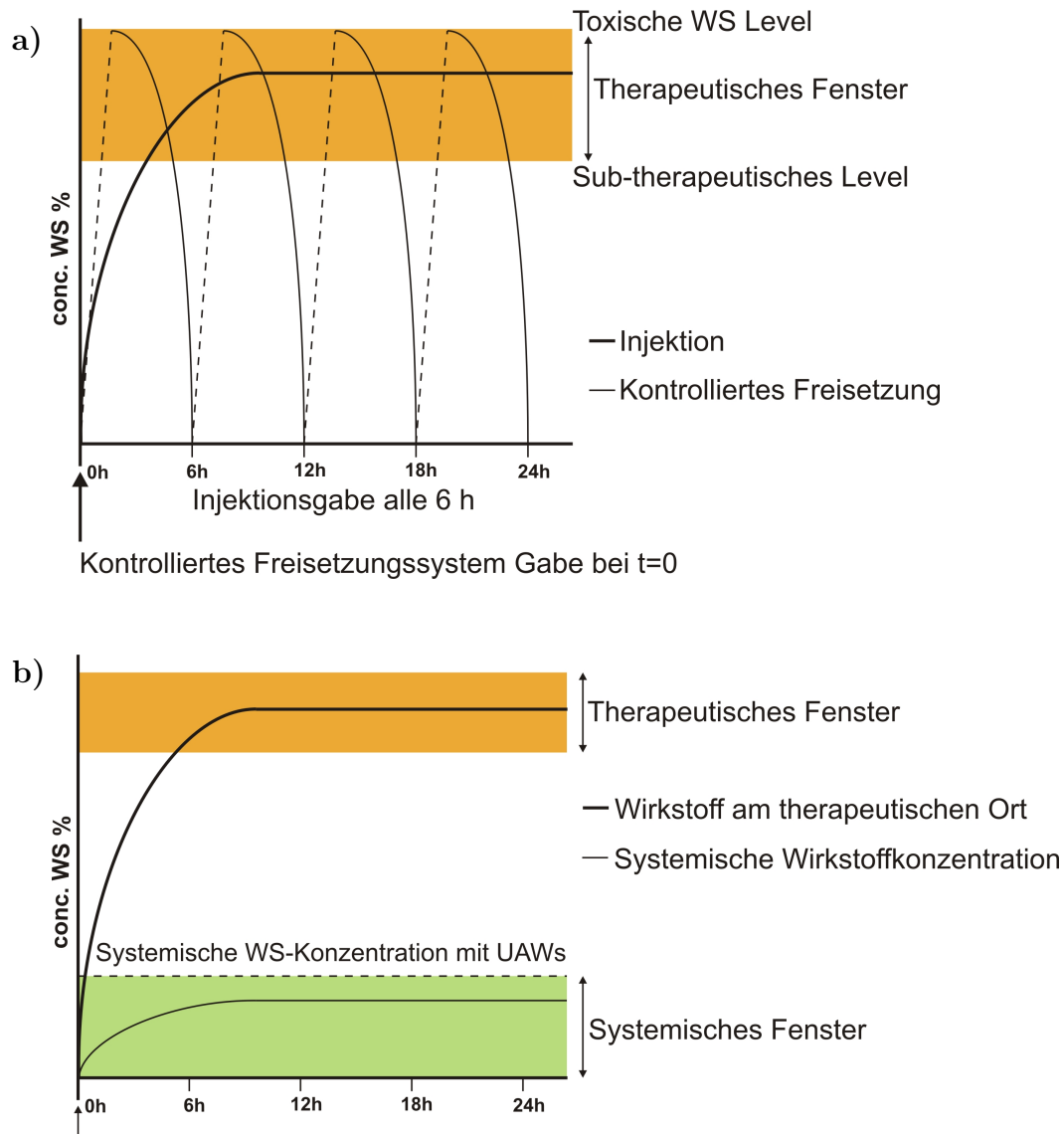
Es gibt zwei grundlegende Mechanismen, die bei der kontrollierten Freisetzung aus polymeren Systemen stattfinden können:

### **1. Temporal kontrollierte Freisetzung**

### **2. Distributions kontrollierte Freisetzung**

#### **1. Temporal kontrollierte Wirkstofffreisetzung**

Bei der zeitlich kontrollierten Freisetzung wird der Wirkstoff in einem bestimmten Zeitintervall oder erst ab einem bestimmten Zeitpunkt während der Behandlung abgegeben. Bevorzugt wird dieses System vor allem für Wirkstoffe, die zu schnell vom Körper verstoffwechselt werden (First-Pass-Effekt). In Folge dessen werden sie sehr schnell vom Körper eliminiert, was eine geringe therapeutische Breite zur Folge hat. Wie in Abb. 1.11 dargestellt würden regelmäßige Injektionen zu Plasmaspitzen führen und somit das therapeutische Fenster zeitlich stark begrenzen.



**Abbildung 1.11:** a) Wirkstoffkonzentrationsverlauf nach Injektionsgabe im Vergleich zur Konzentration nach kontrollierter Wirkstofffreisetzung. b) Wirkstoffverteilung von einem idealen Distributionskontrollierten Drug-Delivery-System.

Bei einer kontrollierten Freisetzung würde es nicht zu Plasmaspitzen kommen, sondern die Freisetzung über ein festgelegtes Zeitintervall stattfinden. Nebenwirkungen würden dadurch deutlich reduziert werden (Abb. 1.11 b).

Die zeitlich kontrollierte Freisetzung unterteilt sich in vier Untergruppen:

**Verzögerte Löslichkeit:**

Eine Beschichtung des Wirkstoffs mit einer Polymermatrix, die eine schlechtere Löslichkeit hat als die Wirkstoffmoleküle selbst, führt dazu, dass die Löslichkeitsrate dieser Moleküle signifikant verringert wird. In Folge dessen kommt es zu einer Verzögerung der Freisetzung, die auch als sustained release bekannt ist.

**Diffusionskontrollierte Freisetzung:**

Verzweigte polymere Systeme wie Hydrogele sorgen dafür, dass der Wirkstoff die Diffusionsbarriere erst überwinden muss, bevor dieser in die physiologische Umgebung gelangt.

**Löslichkeits- und diffusionsflusskontrollierte Freisetzung:**

Diese wird meist durch semipermeable Beschichtungen erreicht, die durch osmotische Effekte nur begrenzt Wasser in das System aufnehmen, was die Löslichkeit der Wirkstoffmoleküle und somit die Diffusion aus dem polymeren System begrenzt.

**Stimuli kontrollierte Freisetzung:**

Die Freisetzung wird durch Veränderung in der Umgebung ausgelöst, wie z.B. des pH-Wertes [79] oder durch magnetische Signale [80], die magnetische integrierte Partikel aktivieren und dadurch den Impuls für die Freisetzung geben.

Weitere Faktoren können Temperaturveränderungen, Ultraschall und elektrische Impulse sein. Das sind äußere oder physiologische Stimuli, die die Aktivierung und somit die Freisetzung stimulieren.

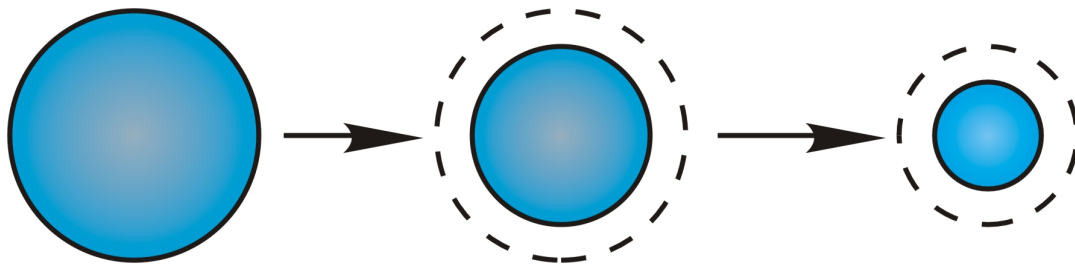
**2. Distributionskontrollierte Freisetzung:**

Die einfachste Methode, die auf dem Freisetzungsprinzip basiert ist, wenn dieses Drug-Delivery-System direkt an dem Zielort implantiert wird.

Erfolgreich wurde diese Methode von chemotherapeutisch wirksamen Therapeutika zur Behandlung von Gliomen eingesetzt [63]. Dies ist aber nur praktikabel, wenn der Wirkstoff am Zielort aktiv ist und nicht gesundes Gewebe angreift, z.B. nicht in der Lage ist aufgrund seiner Polarität die BHS zu passieren.

Diese Form der Freisetzung ist in der Anwendung von kolloidalen Carrier oder Polymer-Wirkstoff-Konjugaten zu finden [75, 81–83].

Eine weitere Methode der Freisetzung wird durch Erosion der Polymeroberfläche oder der kompletten Matrix erreicht. Diese Form der Freisetzung ist weder biologisch noch chemisch kontrolliert, sondern ist ein physikalisch bedingtes Phänomen, was zum Abbau des Polymermaterials führt (Abb. 1.12). Es ist abhängig von Lösungs- und Diffusionsprozessen des Polymers.



**Abbildung 1.12:** Schematische Darstellung der Wirkstofffreisetzung nach physikalisch induzierter Erosion des Polymergerüsts.

## 1.8 Polymere Drug-Delivery-Systeme in der Augenheilkunde

In der Augenheilkunde sind Depotpräparate, die aus Polymeren bestehen, heute das Mittel der Wahl, um eine optimale Arzneimittelversorgung und damit eine bessere und angenehmere Behandlungsmöglichkeit zu ermöglichen.

Der Vorteil an topischen Arzneiformen wie Augentropfen und Salben ist deren schnelle und unkomplizierte Applikation. Nachteilig ist allerdings der schnelle Wirkverlust, bedingt durch die kurze Kontaktzeit mit dem Auge. Daher kommt es zu pulsatischen Arzneimittelwirkungen und weniger zu kontinuierlichen Plasmaspiegeln am eigentlichen Wirkort.

Die Präparate garantieren wie bereits im vorigen Kapitel erwähnt eine kontinuierliche Arzneimittelabgabe. Dadurch kann eine geringere Menge an Wirkstoff verwendet und die UAWs (unerwünschte Wirkungen) signifikant reduziert werden.



In der Augenheilkunde werden die Wirkstoffdepots in zwei Gruppen eingeteilt:

### **Biologisch nicht abbaubare Depots:**

Zu dieser Gruppe zählen Kontaktlinsen. Diese bestehen meist aus dem Hydrogel PHEMA (Polyhydroxyethylmethacrylat). Dieses kann wiederum mit PVP (Polyvinylpyrrolidon) copolymerisiert werden. Dadurch ist es nicht nur in der Lage Therapeutika aufzunehmen, es kann auch Fehlsichtigkeit ausgleichen. Der Nachteil dieser Arzneiform ist die ungleichmäßige Wirkstoffabgabe, was die Bestimmung einer allgemein gültigen Kinetik erschwert, da jeder Wirkstoff andere physiko-chemische Eigenschaften aufweist und die kovalente Bindung bzw. Wechselwirkung mit dem Polymer von diesen Eigenschaften abhängt, wodurch die Diffusion aus der Kontaktlinse drastisch verzögert werden kann.

Membrankontrollierte Inserts, dazu zählen auch die biologisch abbaubaren Inserts, sind eine Arzneimittel-Depotform, bei dem ein Reservoir zwischen zwei polymeren Membranen gebildet und in die kunkuntivale Fornix des Auges eingesetzt wird. Über mehrere Tage wird durch Diffusions- und Osmose-Prozesse der Wirkstoff verzögernd nach dem sustained drug release freigesetzt.

### **Biologisch abbaubare Depots:**

Dies sind Arzneimittel-Depots, die aus polymeren Bestandteilen bestehen und sich im Auge auflösen.

Dazu zählen sogenannte:

**SODIs** (Soluble Ophtalmic Drug Inserts). Dies sind meist auflösbare Acrylamid-, N-Vinylpyrrolidone oder Ethyl-Acrylat-Copolymere. Diese werden zu dünnen Filmen geschnitten und in den Bindehautsack gegeben, wo sie bereits nach 10-15 Sekunden aufweichen. Das SODIS löst sich nach einer Stunde auf. Allerdings sind innerhalb einer Zeitspanne von 34 h immer noch Bestandteile vorhanden, die Wirkstoff freisetzen können [84,85].

**BODIs** (Bioadhesive Ophtalmic Drug Inserts) sind Inserts, die aus bioadhäsiven Materialien entwickelt wurden, die eine Verweildauer im Auge nachweislich signifikant erhöhen können [86].

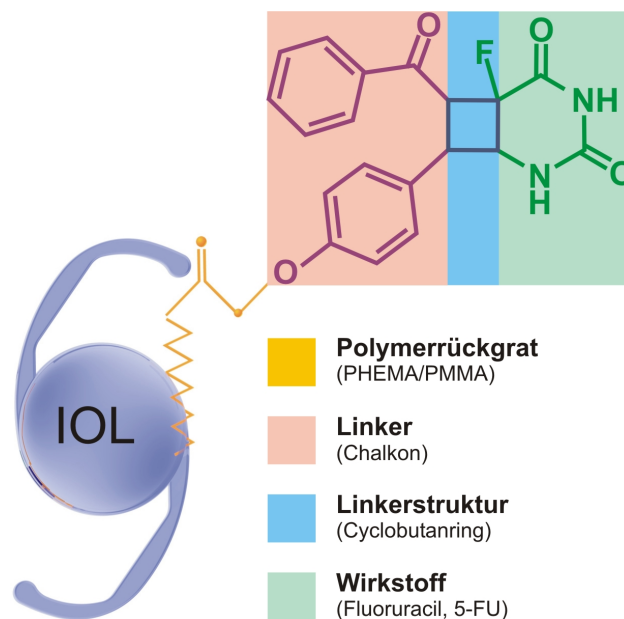
**NODS** (New Ophtalmic Delivery Systems) bestehen aus kleinen PVA-Strips, in welche

Medikamente eingearbeitet wurden. Wenn diese in die Fornix eingelegt werden, weichen sie dort auf und garantieren eine gleichmäßige Arzneimittelabgabe.

Implantierbare mit einem Wirkstoff funktionalisierte Systeme gibt es schon seit Jahren. Dies sind entweder bioabbaubare Drug-Delivery-Systeme, die im hinteren Augenabschnitt angebracht werden <sup>[87]</sup>, oder nicht abbaubare Systeme, die nach einer bestimmten Zeit wieder explantiert werden müssen. Ein implantierbares System, welches seit Jahren auf dem pharmazeutischen Markt zu finden ist, ist Vitrasert, welches zur Behandlung der CMV-Retinitis angewendet wird <sup>[88]</sup>. Dieses verbleibt eine längere Zeit im Auge. Diffusionskontrollierte Vorgänge führen zu einer verzögernden Arzneimittelabgabe.

Die funktionalisierten Polymersysteme, die im Zuge dieser Arbeit entwickelt wurden, gehören im Wesentlichen zu dem implantierbaren Drug-Delivery-System, das erst durch einen äußeren Stimuli aktiviert und daraufhin zur Freisetzung des Wirkstoffs angeregt wird.

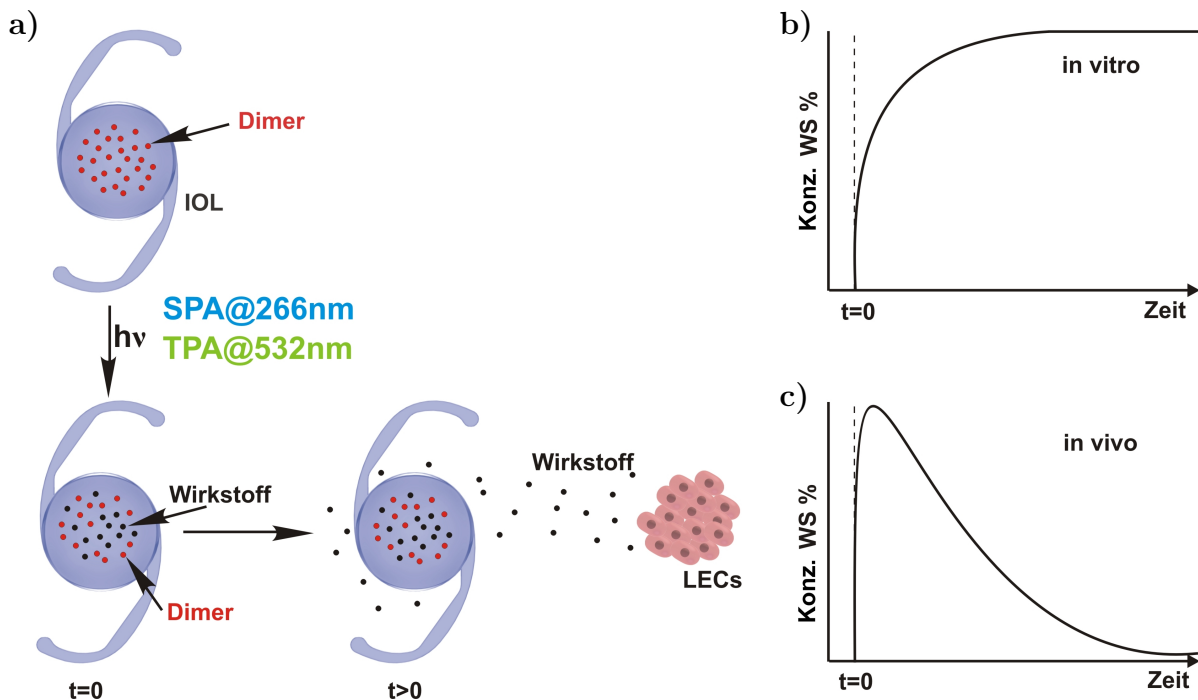
Der Wirkstoff ist durch eine [2+2]-Cycloaddition an einen Linker kovalent gebunden, der wiederum kovalent an das Polymerrückgrat gebunden ist. Wird der Wirkstoff licht-induziert vom Linker gespalten, kann dieser anschließend durch Diffusionsprozesse aus dem Hydrogel in das umliegende Gewebe gelangen.



**Abbildung 1.13:** Schematische Darstellung einer IOL, die mit einem Kreuzdimer funktionalisiert ist.

Adolph Fick formulierte im Jahr 1855 die Gesetzmäßigkeiten der Diffusion. Dabei erfas-

ste er quantitativ mit diesen Gesetzen die Zusammenhänge zwischen Diffusionsstromdichte, die Veränderung der Konzentration auf einer bestimmten Strecke.



**Abbildung 1.14:** a) Schematische Freisetzung aus einer wirkstofffunktionalisierten IOL. b) Diffusionsprofil der Freisetzung in vitro und c) theoretische Freisetzungskinetik in vivo .

Wie in Abb. 1.14 b) und c) verdeutlicht, steigt die Konzentration an freizusetzendem Wirkstoff schon nach kurzer Zeit stark an. Würde die Testung des Drug-Delivery-Systems in vitro durchgeführt, würde der Wirkstoff schnell ansteigen und akkumulieren, was die Ausbildung der Plateauphase in Abb. 1.14 b) erklärt.

Bei in vivo Tests käme es zwar im Gewebe kurzfristig vor Ort zu einer Akkumulation, aber durch Austausch des Kammerwassers und diverser Diffusion gesteuerte Transporte fällt die Konzentration ab.

Der starke Anstieg der Wirkstoff-Konzentration wird durch den Burst-Effekt beschrieben. Der Wirkstoff, der sich an der Polymermatrix-Oberfläche befindet, hat einen relativ kurzen Diffusionsweg zum umgebenden wässrigen Milieu und gelangt deswegen schneller aus dem Polymer. Wirkstoff Linker-Moleküle die an tieferen Schichten gebunden ist, haben einen längeren Diffusionsweg.

Aus diesem Grund flacht die Kurve am Ende des Anstieg etwas ab <sup>[89]</sup>.

Während das 1. Ficksche Gesetz einen zeitlich konstanten Diffusionsfluss beschreibt, kann die Diffusion des Wirkstoffs aus der IOL, der zeitabhängig aus dieser diffundiert, durch das 2. Ficksche Gesetz beschrieben werden (Formel 1.16).

$$\frac{dc}{dt} = D \times \frac{d^2c}{dx^2} \quad (1.16)$$

$c$  =Konzentration ( $\text{mol} \times \text{L}^{-1}$ )

$t$  =Zeit (s)

$D$  =Diffusionskoeffizient ( $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ )

$x$  =Weglänge ( $\text{m}^{-4}$ )

Zu beachten ist, dass das Diffusionsprofil wie bei den nicht abbaubaren Depots (Kontaktlinse) durch verschiedene Faktoren, wie die Löslichkeit des Wirkstoffs, Wechselwirkungen mit dem Polymer und seine Diffusionseigenschaften beeinflusst werden können. U.a. kann es zur Porenbildung kommen.

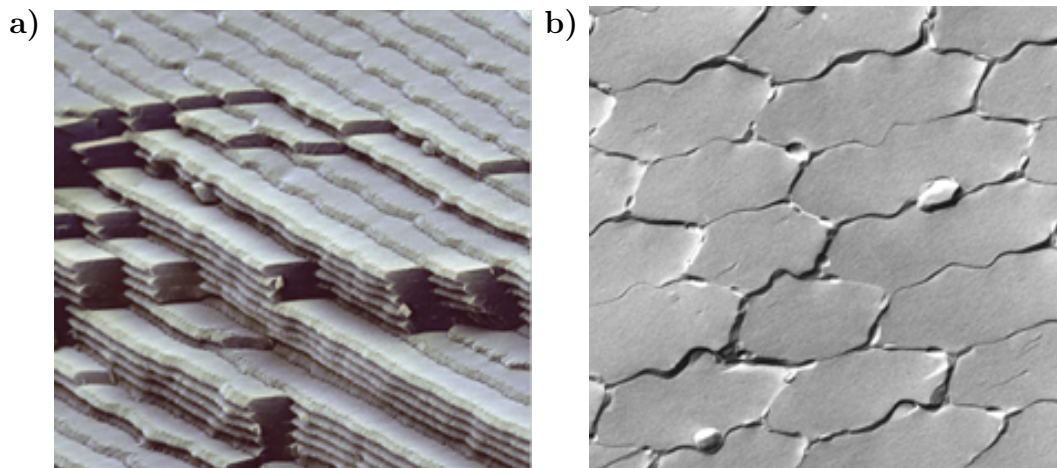
Allerdings ist dieses monolithische System nur mit 2-2,5 % Drug-Linker-Molekülen copolymerisiert, dadurch ist der Einfluss auf die Eigenschaften des Polymers zu gering um negative Effekte auszuüben <sup>[90]</sup>.

## 1.9 Grauer Star

Das Auge ist ein faszinierendes Sinnesorgan und für den Menschen der wichtigste Sinn, der zur Verfügung steht. Denn etwa zwei Drittel der Informationen, die wir aus unserer Umwelt aufnehmen geschieht über das Sehen <sup>[91]</sup>. Diese Informationen werden durch komplexe neuronale Verknüpfungen mit den Informationen von anderen Sinnesorganen wie den Ohren oder den Händen verknüpft und zu einer Information im Gehirn miteinander verwoben.

Jede Sekunde treffen etwa eine Milliarde Photonen auf die Netzhaut. Dies entspricht in etwa 100 MB an Information, die pro Sekunde von unserem Gehirn ausgewertet werden. Dies entspricht einer Datenmenge von 150 Mio. GB pro Jahr <sup>[91]</sup>. D.h. das Auge ist das Sinnesorgan, das den meisten Reizen ausgesetzt ist und welches die meisten Daten an unser Gehirn durch komplexe Netzwerke an Nervenzellen weiterleitet.

Das Besondere an dem Auge stellt die natürliche Linse dar. Anders als der Glaskörper besteht diese nicht zu 99 % aus Wasser und ähnelt somit einer Qualle, was ihre Transparenz erklären könnte. Die Linse setzt sich aus einem hochkomplexen Zellkonstrukt zusammen, den Linsenzellen. Die Transparenz der Linse wird nicht etwa durch einen hohen Wassergehalt erreicht, sondern ist durch ihre besondere Ultrastruktur und deren molekulare Zusammensetzung bedingt <sup>[92]</sup>. Die hochspezialisierten Linsenzellen liegen in regelmäßiger Anordnung vor und bilden ein biologisches Kristall. Im Querschnitt erscheinen die Faserzellen der Linsen wie flach gepresste Bienenwaben (Abb. 1.15).



**Abbildung 1.15:** SEM-Aufnahmen von Faserzellen der Linsen <sup>[91]</sup> a) Kurzer Abschnitt der Faserzellen in der Linse. b) Freeze fractioning von Faserzellen, zeigt deutlich ihre sechseckige Anordnung .

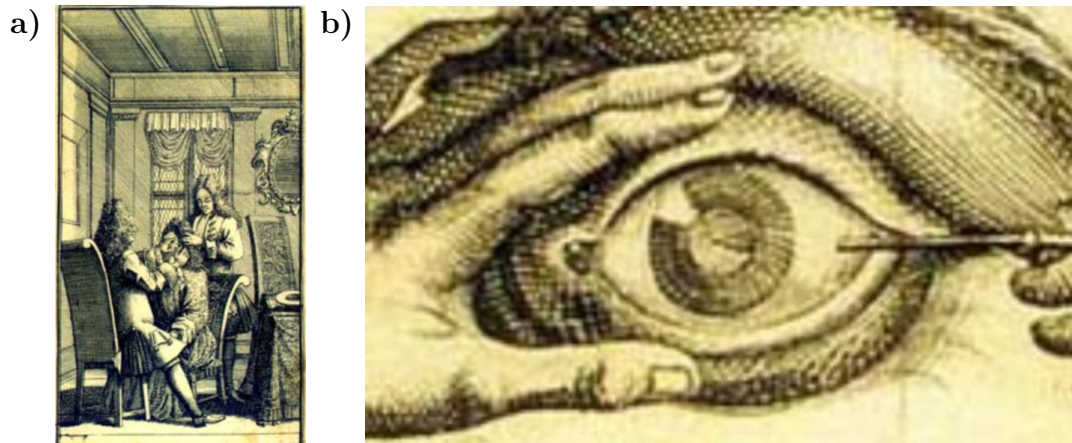
Linsenzellen eliminieren ihre eigenen Organellen und bedienen sich des selben Mechanismus, der auch in sterbenden Zellen aktiv ist <sup>[93]</sup>, damit die Linse transparent und lichtdurchlässig bleibt.

Der Energiestoffwechsel der Linsenzellen funktioniert nicht wie gewöhnlich, sondern wird durch die kristallinen, spezialisierte Proteine übernommen. Versorgt werden die Linsenzellen durch das umliegende Kammerwasser. Dies ist ein Ultrafiltrat des Blutes, dass keine Zellorganellen enthält und somit transparent ist. Es versorgt nicht nur die Linse sondern auch die Hornhaut mit Nährstoffen und entsorgt durch Diffusionsprozesse die aufkommenden Abfallprodukte <sup>[92]</sup>.

Interessanterweise können die in den Faserzellen der Linse enthaltenen Moleküle wie das Glutathion, welches in hoher Konzentration anzutreffen ist, hochschädliche Substanzen durch komplexe Abbaureaktionen inaktivieren <sup>[91]</sup>. Diese schädlichen Substanzen können z.B. durch UV-Strahlung entstehen.

Wenn die schädlichen äußeren Einflüsse zu hoch, oder durch Fehlanordnung, dieser hoch komplexen Zellen, akkumulierende Abfallprodukte des Stoffwechsels angereichert werden, kann dies zu einer Trübung der Linse führen, was wiederum die Entwicklung des grauen Stars zur Folge hat.

Der graue Star, der auch als Katarakt bekannt ist, stellt eine der Hauptursachen für Erblindung dar.



**Abbildung 1.16:** a) Operativer Starstich im 18. Jhr. b) Kupferstich, der das Eindringen der Starnadel zeigt <sup>[94,95]</sup>.

Der Begriff stammt aus dem Griechischen und bedeutet übersetzt „Wasserfall“, zum einen weil die Betroffenen ihr Sehvermögen so beschreiben, als sehe man durch einen

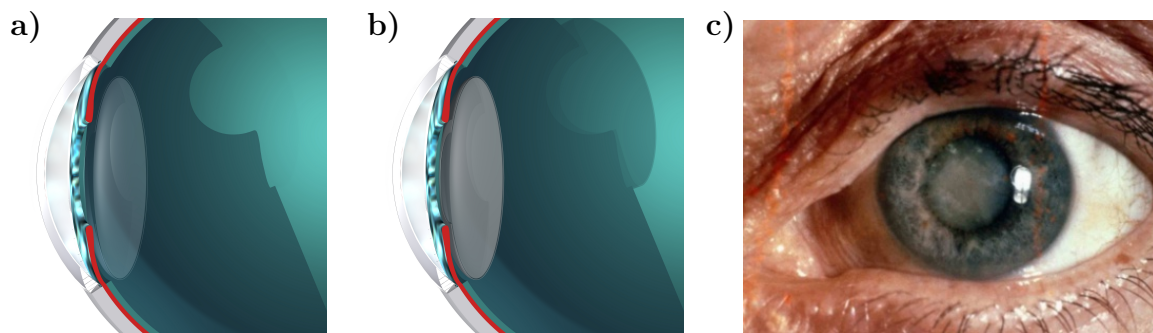
Wasserfall oder aufgewühltes Wasser, und zum anderen, weil die getrübbte Linse wie „geronnenes“ Wasser aussieht (Abb. 1.17).

Bekannt ist die Erkrankung schon seit der babylonischen Zeit und wurde bereits 1750 v. Chr. im Codex Hammurapi beschrieben, was eine Ansammlung von Rechtssprüchen zu dieser Zeit darstellte [96]. Die operative Behandlung des grauen Stars fand in dieser Zeit schon statt und wurde als „Starstich“ bezeichnet.

Hierfür wurde eine Nadel (Starnadel) in das Auge eingeführt und die getrübbte Augenlinse auf den Boden des Augapfels gedrückt, damit wieder mehr Licht auf die Netzhaut fallen und der Betroffene wieder sehen konnte [97].

Die fehlende Brechkraft der Linse wurde durch eine sogenannte Starbrille ausgeglichen, die mindestens +11 Dioptrien besaß.

Hauptkomplikationen dieses Eingriffs waren Infektionen und Sepsis. Es war durchaus möglich, dass es zu Rezidiven kam, d.h. die getrübbte Augenlinse wieder aufstieg und der Patient erneut erblindete [97].



**Abbildung 1.17:** a) Schematische Abbildung des Auges mit transparenter Linse b) schematische Abbildung der Trübung der Linse und c) fortgeschrittener grauer Star eines Patienten mit deutlich sichtbarer Eintrübung der natürlichen Linse [98].

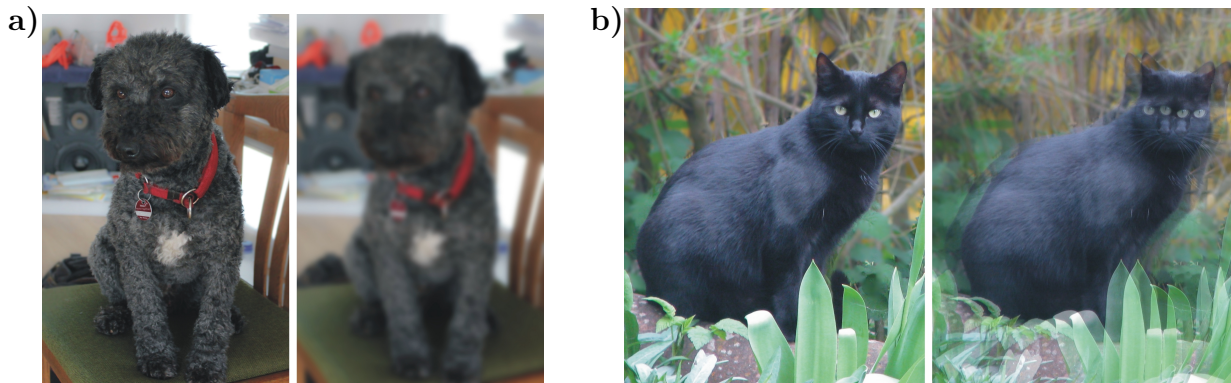
Diese brachiale Operationsmethode wird bis heute in den dritten Weltländern durchgeführt, da dort die finanziellen Möglichkeiten für eine entsprechende Behandlung fehlen [99].

Eines der Hauptsymptome des grauen Stars ist ein langsamer, schmerzloser Visusverlust, d.h. die Sehschärfe der Betroffenen lässt mit der Zeit deutlich nach. Die Betroffenen nehmen alles verschwommen wahr und leiden unter einer erhöhten Blendempfindlichkeit, die durch die Linsentrübung hervorgerufen wird, da diese eine diffuse Lichtbrechung verursacht. Doppelsichtigkeit, Lichthöfe, eine verlangsamte Hell-Dunkel-Adaption, und der



fortschreitende Verlust des räumlichen Sehens sind weitere typische Symptome dieser Erkrankung.

Über 20 Mio. Menschen sind weltweit an grauem Star erkrankt [3,4].



**Abbildung 1.18:** Häufigsten Symptome des grauen Stars a) Verlust der Sehschärfe und b) Doppelsichtigkeit.

Generell wird zwischen altersbedingten und juvenilen Katarakt unterschieden wobei diese noch in Unterformen gegliedert sind [100].

Die natürliche Verfärbung der Linse welche auch als Kernsklerose bezeichnet wird, beginnt bereits ab dem 40. Lebensjahr. Ursachen dafür sind die natürliche Sklerosierung der Linse und die Photooxidation durch UV-Bestrahlung [100].

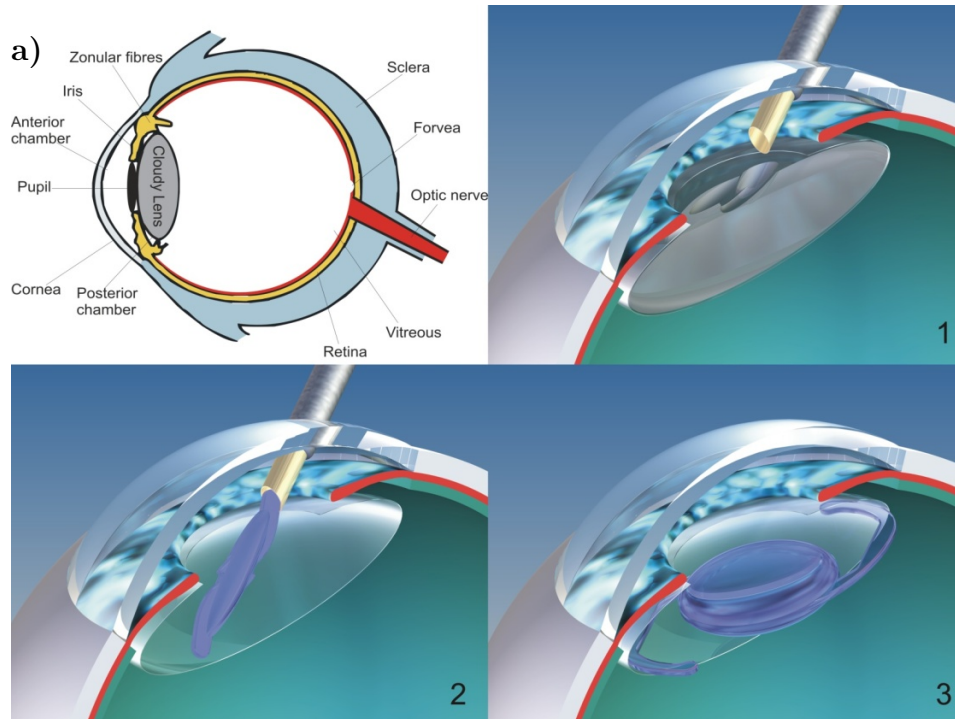
Bei über 90 % der Menschen über 65 Jahren kann eine Linsentrübung festgestellt werden, die über mehr oder weniger Visusminderung leiden. Der altersbedingte Katarakt ist mit Abstand die häufigste Form und macht 90 % aller Linsentrübungen aus.

Er unterliegt einem komplexen biochemischen Vorgang, der in Details noch nicht aufgeklärt wurde [27]. Dementsprechend ist eine medikamentöse Behandlung als solche nicht möglich. Mehrere epidemiologischen Untersuchungen ergaben, dass die Entwicklung der altersbedingten Varianten durch verschiedene Ursachen begünstigt werden.

Das wäre z.B. das höhere Alter [101–103], Nikotinabusus, UV-B-Strahlenbelastung durch erhöhte Sonnenexposition [104], Trauma [27], Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes Mellitus oder Schilddrüsenerkrankungen [16,27,28]. Der juvenile oder angeborene Katarakt ist sehr selten und kommt mit einer Prävalenz von 2,2 bis 3,6 auf 10.000 Neugeborenen vor [105,106]. Der Anteil des angeborenen Katarakts macht nur etwas 1 % von allen Kataraktformen aus [27]. Genetische Prädisposition, Rötelinfection der Mutter oder eine hohe Cortisongabe vor der Geburt zwecks Lungenreife können Ursachen für die Entwicklung eines frühkindlichen Kataraktes darstellen [100,107].



In über 90 % aller Katarakterkrankungen ist eine Operation unumgänglich. Dabei wird die körpereigene trübe Linse operativ extrahiert und durch eine polymere künstliche Intraokularlinse (IOL) ersetzt. Diese Methode wird auch als Phakoemulsifikation bezeichnet (Abb. 1.19).



**Abbildung 1.19:** a) Schematische Abbildung des Auges. 1-3 einzelne Schritte der Phakoemulsifikation.

### Schritt 1:

Zunächst wird die vordere Linsenkapsel durch einen 3-4 mm langen Schnitt entfernt, die trübe Linse durch eine sogenannte Hand-Ultraschallsonde zertrümmert und abgesaugt, während zeitgleich sterile Kochsalzlösung zum Spülen eingeleitet wird um überschüssiges Gewebe und Linsenepithelzellen auszuschwemmen.

### Schritt 2:

Die polymere IOL wird über eine Sonde in die Linsenkapsel eingesetzt. Das Linsenmaterial ist hydratisiert. Dadurch ist es flexibel und faltbar und passt hervorragend in die, für die Sonde vorgesehene Öffnung. Die IOL wird aus der Halterung gedrückt und entfaltet sich schließlich an Ort und Stelle.

**Schritt 3:**

Die IOL besitzt am äußersten Rand Haptiken die nach Entfalten der IOL dafür sorgt, dass die IOL nicht verrutscht und die gleiche Position wie die natürliche Linse einnimmt. Der Ziliarmuskel ist an der Fixierung ebenso beteiligt.

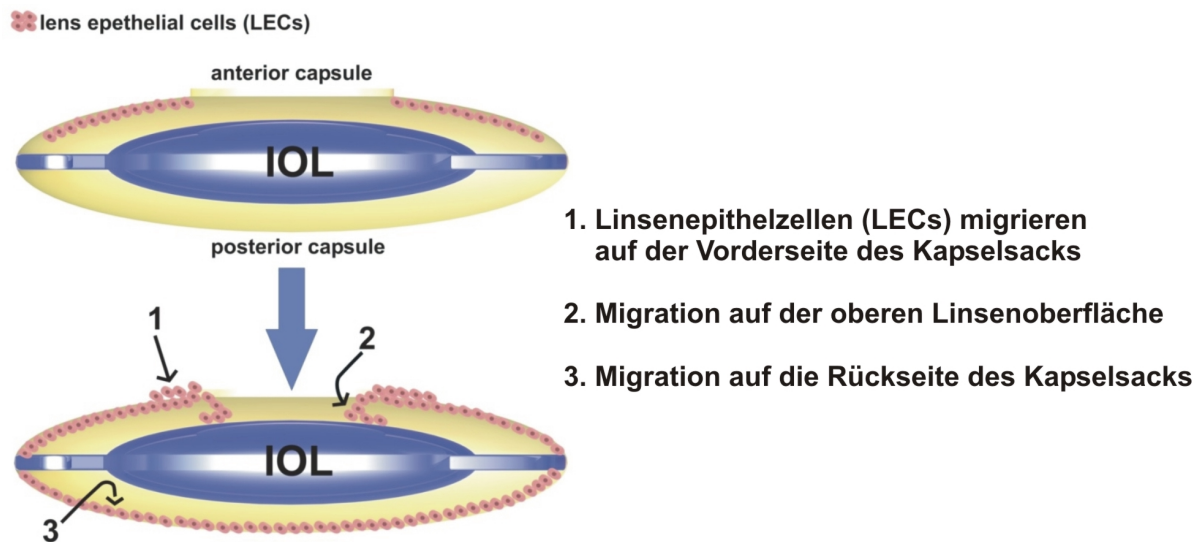
Die Operationsmethode ist heute unumgänglich und wird im Jahr rund 800.000 mal in Deutschland durchgeführt <sup>[108]</sup>. Auch diese Methode birgt Risiken, wie ein erhöhter Augeninnendruck, Infektionen und eine Ablösung der Retina, die unmittelbar nach der Operation auftreten können.

## 1.10 Der Nachstar

Längerfristig birgt der invasive Eingriff der Phakomemulsofifikation die erneute Eintrübung der künstlichen Linse. Dies kommt innerhalb der ersten 3-5 Jahre nach der Katarakt-OP bei über 50 % der Patienten vor <sup>[7-10]</sup>. Dieses medizinische Phänomen wird auch als regenerativer Nachstar (Cataracta secundaria) bezeichnet.

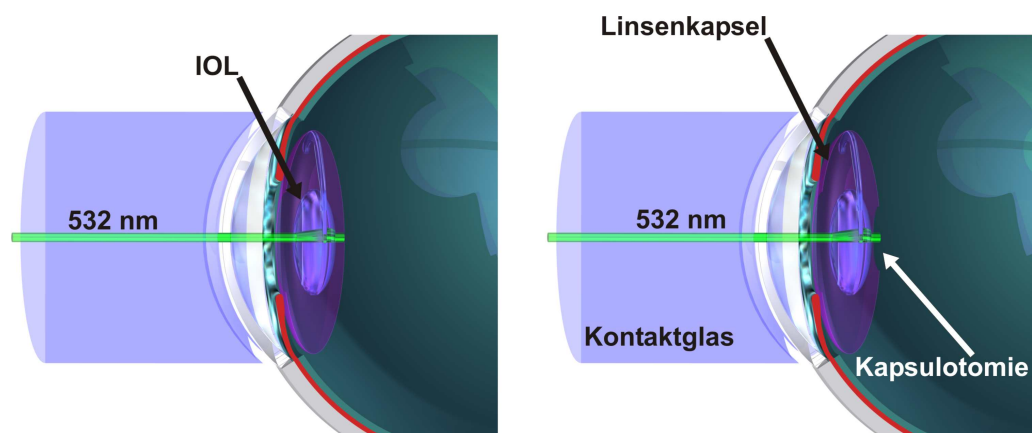
Vielfältige therapeutische Ansätze zur Nachstarbekämpfung, wie die Behandlung mit entsprechenden Arzneimitteln wie Ibuprofen, Kortikosteroide oder zytostatisch wirksame Substanzen wie 5-Fluoruracil, wurden versucht, wobei diese als topische Anwendungen wie Augentropfen oder Injektionen an den Zielort gelangten.

Bis heute hat sich allerdings ein besonderes scharfkantiges Design der Intraokularlinsen nach Nishi 1998 durchgesetzt, welches nachweislich die Ausbildung der sogenannten Kapselfibrose (Nachstar) reduziert. Er kann jedoch nicht verhindert werden und die derzeitige primäre Behandlungsmethode ist bis heute die Nd:YAG-Laser-Kapsulotomie, wobei der hintere Kapselsack zerstört und das überschüssige Linsengewebe abgesaugt wird (Abb. 1.21).



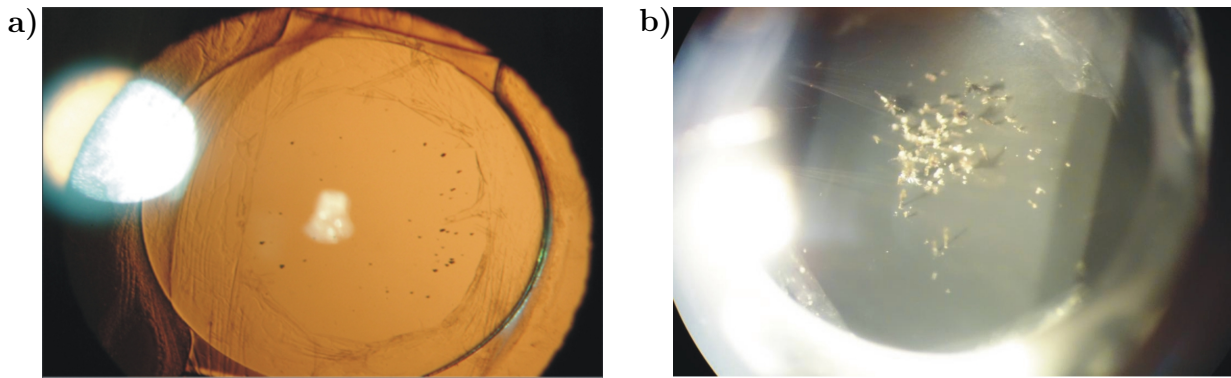
**Abbildung 1.20:** Schematische Darstellung der Entwicklung des Nachstars nach dem Modell von N. Ibaraki erstellt <sup>[109]</sup>.

Die Ursache der Eintrübung wird entfernt. Allerdings wird durch diesen invasiven Eingriff der Kapselsack irreversibel zerstört. Das kann dazu führen, dass die Haptiken der IOL keinen Halt mehr haben und diese in Folge dessen im Auge verrutschen kann.



**Abbildung 1.21:** Schematische Darstellung der Nd:YAG-Laser-Kapsulotomie.

Zusätzlich kann die IOL durch den Laser nachhaltig geschädigt werden (Abb. 1.22), was wieder die Brechkraft der Linse verschlechtert.



**Abbildung 1.22:** Durch Laser-Kapsulotomie Beschädigte IOLs <sup>[110,111]</sup>

Diese Methode ist bisher die einzige um den Nachstar nachweislich zu behandeln und die Sehkraft der Patienten wieder herzustellen. Allerdings birgt diese Methode zahlreiche Komplikationen. So können unter anderem ein Anstieg des Augeninnendrucks, Infektionen und Makulaödeme, während und nach dem Eingriff auftreten <sup>[25,26]</sup>.

Um den Nachstar besser behandeln zu können und ihm sogar soweit vorzubeugen, wurden in den letzten zwei Jahrzehnten verschiedene Ansätze aufgegriffen, um weitere Strategien zu entwickeln. Das sind zum einen polymere IOLs mit besonderem Design, die von scharfkantigen bis glatten Oberflächen <sup>[112–114]</sup> reichen. Ein weiterer Ansatzpunkt war die Oberfläche des Designs so zu modifizieren, dass eine Zelladhäsion an der IOL-Oberfläche von LECs, nur bedingt möglich war <sup>[115,116]</sup>, sowie eine Materialveränderung der polymeren Zusammensetzung, die diese auch reduzieren sollte <sup>[14]</sup>.

Ein weiterer Ansatz war die Behandlung mit Wirkstoffen, die die Apoptose der LECs hervorriefen, wie unter anderem Ibuprofen, 5-Fluoruracil oder Corticosteroide <sup>[14–18,27,28]</sup>, oder prophylaktisch als topische Arzneimittel gegeben wurden, um die Entwicklungen des regenerativen Nachstars zu verhindern.

Der Nachteil an Augentropfen ist, dass nur etwa 1-5 % des Medikaments an den Zielort gelangt <sup>[107]</sup>. Damit kann das umliegende Gewebe durchaus negativ in Mitleidenschaft gezogen werden. Injektionen sind schmerzhaft und müssten auch mehrmals wiederholt werden.

Ein weiterer und vielversprechender Ansatz war die Kombination aus beiden Ansätzen. Ein Wirkstoff, der die Zellproliferation und -migration und dadurch die Apoptose der LECs hervorruft, welcher an einem Polymer immobilisiert wird.

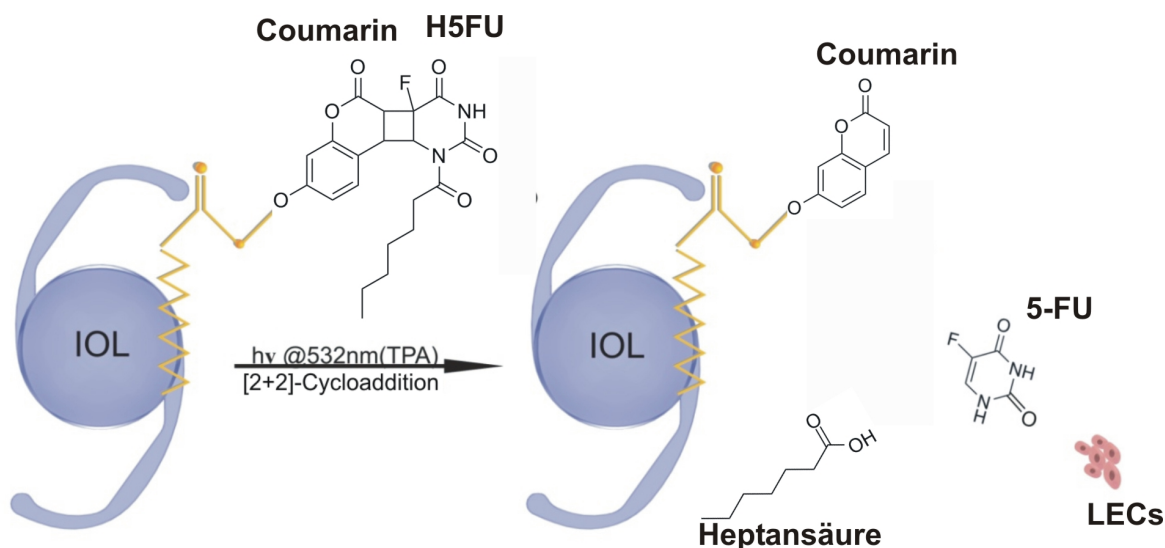
Der Wirkstoff wird dabei so an das Polymer gebunden, dass dieser nur nach Bedarf nichtinvasiv, durch photochemische Reaktionen freigesetzt wird.

Dabei müssen mehrere Faktoren beachtet werden. Das Polymer muss in der Lage sein

durch photochemische Reaktionen an einen Linker kovalent zu binden und nur durch gezielte Bestrahlung nach Bedarf freigesetzt zu werden, und dies am besten in einem Wellenlängenbereich  $>360$  nm, da die Cornea nur 3 % UV-Strahlung durchlässt (DIN ISO 11975-5). D.h. das Wirkstoff-Linker-System darf z.B. erst durch gezielte Bestrahlung mit einem Nd:YAG-Laser bei 532 nm aktiviert werden.

Des Weiteren ist es wichtig, dass der Wirkstoff wasserlöslich ist. Ansonsten könnte es sein, dass er sich nur sehr schlecht aus dem Polymer löst und somit den therapeutischen Effekt verfehlt.

Das Polymer darf in seinen physikochemischen Eigenschaften nicht nachteilig beeinträchtigt werden, wie z.B. der Brechkraft, oder der Hydratisierbarkeit. Das Polymer darf sich nicht zu stark verfärben, da dies die optischen Eigenschaften negativ beeinflussen würde.



**Abbildung 1.23:** Schematische Darstellung einer funktionalisierten IOL, die durch gezielte Bestrahlung Wirkstoffe freisetzt.

Die ersten Systeme dieser Art wurden in den Arbeitskreisen von Herrn Prof. Dr. A. Greiner und Herrn Prof. Dr. N. Hampp entwickelt <sup>[19,117–121]</sup> und durch nachfolgende Arbeiten fortgeführt und modifiziert <sup>[32,122–124]</sup>.

Diese Systeme setzten sich aus hydrophoben Polymeren, bestehend aus PMMA und einem copolymerisierten Linker, dem Coumarin, zusammen, welches durch photoinduzierte  $[2+2]$ -Cycloaddition mit dem zytostatisch wirksamen 5-Fluoruracil verlinkt wurde und durch entsprechende  $[2+2]$ -Cycloreversionsreaktion wieder freigesetzt werden kann. Dabei werden die bereits empirisch gut erfassten photochemischen Eigenschaften des

Coumarins genutzt, welche für [2+2]-Cycloadditionen und -reversionen geeignet sind [44,125]. Die [2+2]-Cycloadditionen wurden 1922 von Ciamician und Silber entdeckt [47]. Das entstandene Produkt wurde erst 1966 von Schenk durch die  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie charakterisiert [126]. Dabei bilden die beiden  $\pi$ -Bindungen unter Ringschluss einen Cyclobutanring, der wellenlängenabhängig gebildet, als auch gespalten werden kann [45].

Photochemisch induzierte Reaktionen, die nach diesem Typ ablaufen, werden auch als pericyclische Reaktionen bezeichnet und beschreiben in der Regel konzertiert ablaufende Reaktionsverläufe, die keine isolierbaren Übergangszustände aufweisen können.

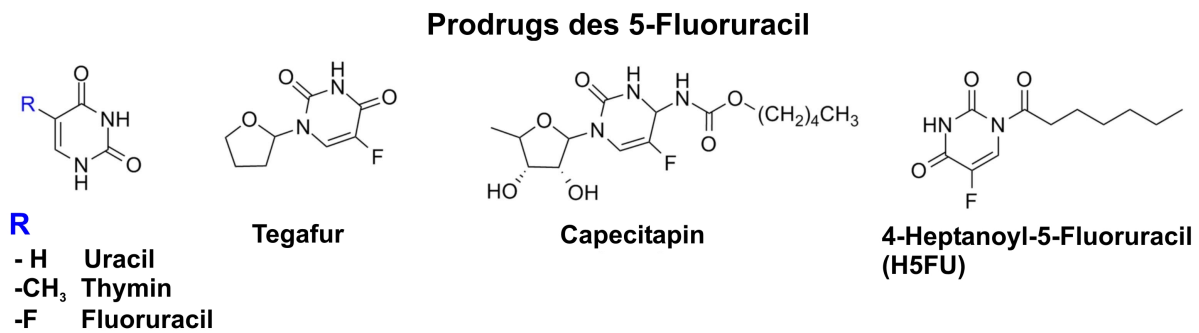
Durch diese Reversibilität dieses Systems konnte ein neues Drug-Delivery-Design entwickelt werden, was zum einen am Zielort nach Bedarf nichtinvasiv freigesetzt wird und zum anderen nach Bedarf so oft wie möglich wiederholt werden kann.

## 1.11 Pharmakologische Wirkungsweise von 5-Fluoruracil (5-FU) und Tranilast

5-Fluorouracil wird auch als Fluoruracil (INN) bezeichnet. Die Struktur des Moleküls setzt sich aus einem Pyrimidingrundgerüst zusammen. Es ist ein Derivat der Nukleobase Uracil.

Entdeckt wurde es 1957 von Heidelberger et al. [127] und wird seit 1962 von der Pharmafirma Hoffmann-La Roche vermarktet.

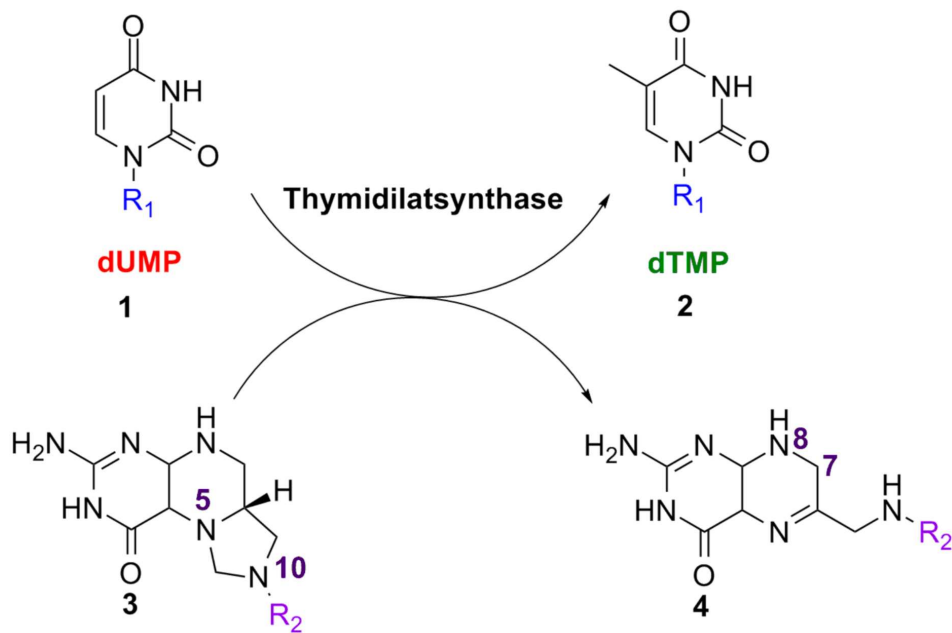
Es wird nicht nur als Zytostatikum während der Chemotherapie, sondern auch aufgrund seiner ausgezeichneten antiproliferativen Wirkung bei Warzen (Verrumal®) oder bei aktinischen Keratosen (Efudix®) angewandt [128, 129].



**Abbildung 1.24:** Strukturähnlichkeit der Derivate des 5-FUs und mögliche Prodrugs des Wirkstoffs.

5-FU ist ein Uracil- bzw. Thymin-Antagonist, da es anstelle von Thymin (DNA-Nukleotid) bzw. Uracil und Cytosin (RNA-Nukleobasen) in die DNA bzw. RNA eingebaut und infolgedessen die DNA- bzw. RNA-Synthese gehemmt wird [130].

Nach Umwandlung des 5-FU-Moleküls durch das Enzym UMP-Phosphorylase zu 5-Fluordesoxyuridin-mono-phosphat (5-FU-UMP) wird es weiter zu 5-Fluordesoxyuridin-triphosphat (5-FU-UTP) phosphoryliert. Zusammen mit Folsäure hemmt sie die Thymidylatsynthase und damit die Methylierung der Desoxyuridylsäure zur Thymidylsäure. Infolge dessen wird die DNA-Synthese gehemmt und 5-FU-UMP wird als falscher Baustein in die RNA eingebaut.



**Abbildung 1.25:** Schematische Darstellung des Wirkmechanismus von 5-FU 1. dTMP wird aus dUMP synthetisiert, Reaktion wird durch die Thymidilatsynthase katalysiert 2. Umsatz von N5,N10-Methylenetetrahydrofolat (3) zu 7,8-Dihydrofolat (4) 3. 5-Fluor-dUMP inhibiert die Thymidilatsynthase reversibel und hemmt dadurch diese Reaktion.

Der Wirkstoff 5-FU ist bei verschiedenen Tumorerkrankungen als Zytostatikum erprobt und ist bei Kolon, Rektum, Mamma-, Ösophagus-, Leber- und dem Harnblasen-Karzinom und weiteren Krebserkrankungen indiziert.

5-FU kann entweder direkt (Fluoruracil-GRY®, 5-FU Hexal®) oder auch als Prodrug verwendet werden. Dann wird es erst durch enzymatischen Abbau in die aktive Form umgewandelt.

Das bekannteste Prodrug von 5-FU ist Tegafur, welches zusammen mit Uracil und Calciumfolionat appliziert wird.

Durch das CYP Enzym des Typs CYP2A6 wird das Prodrug enzymatisch zu 5-FU umgewandelt. Der enzymatische Abbau durch die Dihydro-Pyrimidin-Dehydrogenase (DPD) wird durch Uracil gehemmt, da es die DPD reversibel hemmt [130,131]. Calciumfolionat steigert nachweislich die Zytotoxizität von 5-FU.

Capecetabin (Xeloda®) ist ein weiteres Prodrug, das in der Leber enzymatisch in die aktive Form überführt wird.



Auch in der Augenheilkunde wird 5-FU verwendet. Das bedeutendste Beispiel ist die Behandlung auftretender Komplikationen nach der Trabekerelektomie.

Dabei handelt es sich um eine invasive operative Methode um den intraokulären Druck (IOD), der durch den Glaukom (grünen Star) verursacht wird, nachhaltig zu senken.

Das stark proliferierende Narbengewebe, das bei diesem Eingriff entsteht, ist die Hauptursache dafür, dass dieser Eingriff sehr häufig scheitert.

Um der Vernarbung des operativ geschaffenen Abflussweges entgegenzutreten wurden sowohl hochwirksame als auch hochtoxische Substanzen eingesetzt [132–135].

5-FU wird hierbei durch Injektionen subkonjunktival appliziert und garantiert eine Erfolgsrate von 49 % [136].

Aber auch im Bereich der Behandlung des sekundären Kataraktes wurde es erfolgreich erprobt [14–16, 18, 27].

Das ist einer der Hauptgründe, warum für diese Drug-Delivery-Systeme 5-FU verwendet wurde. Es ist pharmakologisch erprobt und für die Behandlung in der Augenheilkunde zugelassen [16, 137, 138]. Der wichtigste Punkt für den Einsatz des 5-FU ist, dass seine photochemischen Eigenschaften bzgl. der photoinduzierten [2+2]-Cycloaddition bereits hinreichend untersucht wurden [19]. Diese Untersuchungen zeigten, dass 5-FU zu Dimerisierung fähig ist und sogar Isomere bei dieser Reaktion hervorgehen. Mohamed et al. und Fernandez et al. [16, 138] konnten durch einschlägige Zelltests an LECs zeigen, welche Auswirkungen 5-FU auf diesen Zelltyp hat.

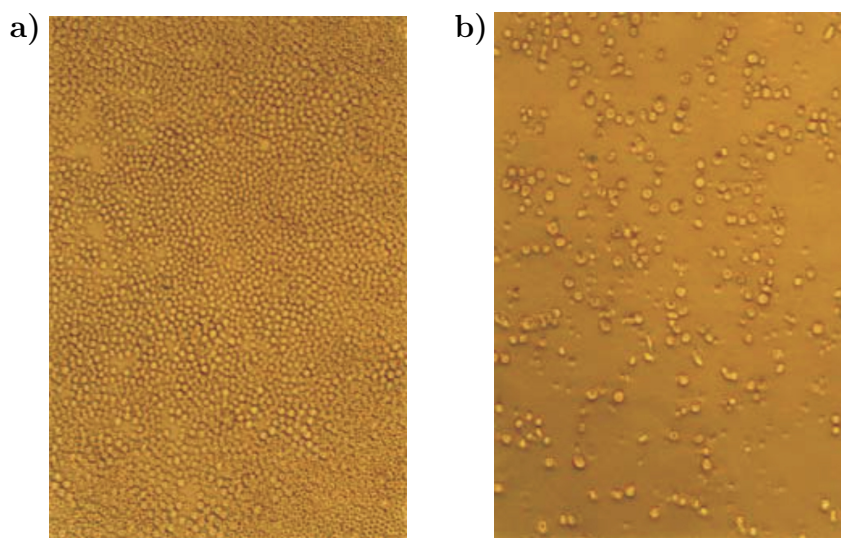
Durch weitere Zelltests an LECs konnte herausgefunden werden, ab welcher Konzentration deren Wachstum effektiv zu 50 % gehemmt werden kann. Dabei lag die  $IC_{50}$  Konzentration bei 0,2–1,0  $\mu\text{g/mL}$  [139]. Antiproliferative Effekte wurden ab einer Konzentration von 0,6–5,0  $\mu\text{g/mL}$  beobachtet [117, 140].

Diese ermittelten Daten waren essentiell, um eine effektive Beladung von 5-FU an dem Polymer zu bestimmen. Da der Verteilungskoeffizient zwischen der polymeren IOL und dem Kammerwasser unbekannt ist und bei der Bestrahlung nicht 100 % des Wirkstoffs gespalten werden, wurden, unter Beachtung der Spaltungsrate während der TPA-Prozesse, 1,8–2,5 % Kreuz- bzw. Homodimer an das Polymer kovalent gebunden.

Dabei war es wichtig den Beladungsgrad so zu wählen, dass genügend 5-FU abgespalten und freigesetzt wurde, um antiproliferativ zu wirken. Zum anderen musste dieser hoch genug sein, dass das System nach Bedarf wiederholt photoinduziert aktiviert werden kann.

Zelltests wurden bereits von Dr. S. Härtner an Pankreastumorzellen durchgeführt. Pankreastumorzellen weisen eine höhere Sensitivität gegenüber 5-FU auf, da diese einer höheren Proliferationsrate unterliegen als die LECs <sup>[141,142]</sup>.

Hierfür wurde ein Polymerfilm erzeugt, der H5FU-Coumarin-Dimere enthielt (H5FU-PMAOC:PMMA-Film) <sup>[143]</sup>. H5FU wurde durch Bestrahlung mit einer Lichtquelle bei 254 nm vom Linker-Molekül abgespalten und aus dem Polymerfilm freigesetzt.



**Abbildung 1.26:** Zellkulturen a) vor der SPA-induzierte 5-FU-Freisetzung b) nach der 5-FU-Freisetzung <sup>[143]</sup>.

Die Heptanoylschutzgruppe an Position vier des 5-FUs wird durch eine Hydrolysereaktion abgespalten, so dass H5FU in die aktive Form des 5-FU umgewandelt wird. Der Nachteil an dieser Modifikation ist, dass diese weder pharmakologisch erprobt noch für die Behandlung zu gelassen ist. Aufgrund dessen wird in dieser Arbeit die Heptanoylschutzgruppe entweder vor der kovalenten Bindung an das Polymerrückgrat hydrolytisch gespalten oder beim Rehydratisieren des Polymers ein geringer Anteil an Säure hinzugegeben, um diese Schutzgruppe erfolgreich zu hydrolysieren (siehe Kapitel 4.5).

Durch die Hydrolyseinstabilität des Coumarins <sup>[20]</sup> wurden in dieser Arbeit weitere Linkerstrukturen oder Varianten der Dimer-Moleküle verwendet.

In dieser Arbeit wurde nicht nur 5-FU als zytotoxisch wirksames Agens verwendet, sondern auch erste Versuche mit Tranilast durchgeführt, welches antiproliferativ wirkt.

Der Nachteil an 5-FU ist, dass dieses nicht nur auf stark proliferierendes Gewebe zytotoxisch wirkt, sondern auch gesundes Gewebe oder Zellen angreifen und diese irreversibel schädigen kann.

Aufgrund dessen wurde nach Wirkstoffen gesucht, die in hohen Dosen ohne negative Effekte angewendet werden können um antiproliferativ zu wirken. Wichtig war es, dass dieser Wirkstoff eine Zulassung im Bereich der Augenheilkunde besaß und dadurch erste Erfahrungswerte bei der Behandlung der PCO bestehen.

Des Weiteren muss dieser Wirkstoff eine freie Doppelbindung im Molekülgerüst und gute photochemische Eigenschaften aufweisen, sodass eine photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition möglich ist.

Diese Eigenschaften weist Tranilast (N[3.4-dimethoxycinamoyl]-Anthranilsäure Rizaben®) als ein antiallergisch wirksames Arzneimittel auf, welches in Südkorea und Japan zugelassen ist. Zunächst wurde es bei Asthma bronchiale angewandt (1983) [144]. Ab 1992 wurde die Indikation ausgeweitet und bis heute wird Tranilast bei Asthma, Autoimmunerkrankungen sowie bei der atopischen wie topischen Pathologie wie z.B. Keloiden und hypertrophen Narbengewebe, die durch übermäßigen aktiven Fibroblasten hervorgerufen werden, eingesetzt.

Der antiproliferative Wirkmechanismus wurde Ende der 80er Jahre identifiziert [145–147]. In vitro Tests zeigten, dass Tranilast die Kollagensynthese in Fibroblasten reduziert und infolge dessen das Wachstum der Neurofibromazellen hemmt [120]. Des Weiteren zeigten in vitro Zelltests, dass es die Synthese von Interleukin-6 in Endothelzellen hemmt und somit zu einem Wachstumsstopp in den Zellen führt [148].

Aufgrund dieser antiproliferativen Eigenschaften wurde Tranilast bereits zur Behandlung des sekundären Katarakts (PCO) und Glaukom erfolgreich angewandt [149,150]. Für die Behandlung wurde Tranilast als Augentropfen appliziert. Mit dieser Behandlung konnte signifikant der Entwicklung des sekundären Katarakts vorgebeugt werden.

Bereits eine Tranilast-Konzentration von 0,01 mM hemmt signifikant die Proliferation von LECs [151]. Dabei wurde herausgefunden, dass es Interleukin-18 (Il-18) und dadurch die CDK7 mRNA-Expression gleichfalls hemmt, was wiederum zur Hemmung der Proliferation der LECs führt und somit die Eintrübung der polymeren Intraokularlinse nach der Katarakt-Operation verhindert.

Da Tranilast noch keine bekannten negativen Auswirkungen auf das umliegende gesunde Gewebe hat [151–153], wie z.B. das zytotoxisch wirksame 5-FU, kann es unbedenklich in hohen Dosen angewandt werden.

## 2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war die Konzeption und Etablierung eines Drug-Delivery-Systems, das sich aus einem Polymer und einem Wirkstoff-Linker-Molekül zusammensetzt.

Dieses funktionalisierte Polymer soll in der Lage sein, gezielt am Wirkort durch Licht getriggerte Aktivierung verschiedener Lichtquellen den Wirkstoff nach Bedarf freizugeben.

Des Weiteren galt es im Rahmen dieser Arbeit die Kinetik dieser Wirkstofffreisetzung aus der polymeren Matrix zu untersuchen und zu charakterisieren, als auch die Kinetik der Spaltungsreaktion der Homo- bzw. Kreuzdimere zu untersuchen.

Wirkstofffreisetzungen aus polymeren Drug-Delivery-Systemen wurden schon mehrfach erfolgreich erprobt [14–18, 27, 28]. Grundsätzlich basiert die Freisetzung aus diesen Systemen auf dem Prinzip des sustained drug release [154, 155].

Diese Systeme sind allgemein für eine einmalige Anwendung gedacht. Aus diesem Grund greift an diesem Punkt die photoinduzierte 5-FU-Freisetzung, die zum einen nichtinvasiv, gezielt am jeweiligen Wirkort stattfinden kann und zum anderen durch die Einstellung der Laserenergie, die freigesetzte Dosis an Wirkstoff gezielt variiert werden kann.

Dies ist eine wichtige Voraussetzung dafür, dass es nach Bedarf wiederholt aktiviert werden kann.

Im Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg wurde in verschiedenen Arbeiten dieses Thema aufgegriffen und zu einem erfolgreichen Abschluss gebracht [117, 143, 156] [23, 121, 122]. Die Resultate, die im Folgenden in dieser Arbeit vorgestellt werden, knüpfen an den bisherigen Ergebnissen und Erfahrungen an, um durch die Untersuchung der Freisetzungskinetik aus diesen polymeren Drug-Delivery-System, die Effizienz dieser Freisetzung zu steigern.

Um eine Anwendung dieses Systems zu ermöglichen, wurden polymere Systeme entwickelt, die konform der DIN ISO 11975-5 einen UV-Absorber enthalten, der für die Anwendung solcher Systeme gefordert ist. Ziel war die Entwicklung eines Systems, welches reproduzierbar und effizient herzustellen ist, wiederholbar nach Bedarf aktiviert

werden und Wirkstoff in einer adäquaten Dosis freisetzen kann. Mit diesem System soll eine Alternative nichtinvasive Behandlungsmethode geschaffen werden, die eine Alternative zu der chirurgischen invasiven Laserkapsulotomie darstellt.

Der Vorteil an diesem Systems zu den bisherigen Depot-Präparaten, die nach dem Prinzip einer verzögernden Freisetzungskinetik den Wirkstoff freisetzen, ist, dass der Wirkstoff erst durch den äußeren Stimulus des Laserlichtes aktiviert und anschließend freigesetzt wird.

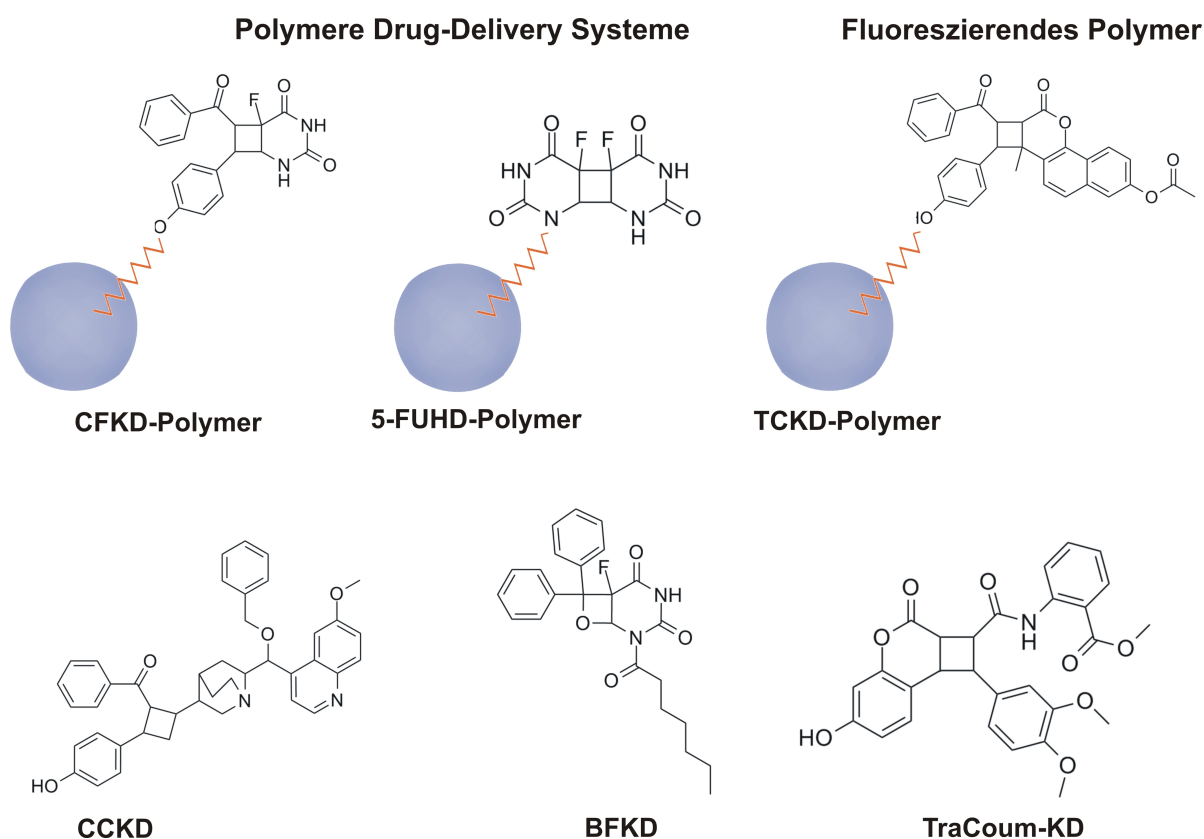
Der Vorteil liegt darin, dass nach dem Eingriff der Phakoemulsifikation die Wundheilung direkt nach dem Eingriff nicht nachhaltig durch das Diffundieren eines zytotoxisch wirkenden Agens gestört, sondern dieses erst nach Bedarf freigesetzt wird.

Die vorgelegte Arbeit beinhaltet folgende Fragestellungen:

- Die Entwicklung zweier polymere Drug-Delivery-Systeme, die zum einen mit einem Kreuzdimer CFKD (Chalkon-Heptanoyl-5-Fluoruracil) und zum anderen mit dem H5FU-HD (Heptanoyl-5-Fluoruracil-Homodimer) funktionalisiert wurde. Es galt die Synthesen so zu optimieren, dass sie die bestmöglichen Ausbeuten hervorbringen. Des Weiteren sollte ein UV-Absorber copolymerisiert und die Kinetik der Wirkstofffreisetzung der Systeme miteinander verglichen werden.
- Erstellen eines Diffusionsprofil aus einer polymeren Matrix durch Entwicklung eines Farbstoff-Linker-Moleküls, welches durch den gleichen Linker nicht nur eine Strukturähnlichkeit aufweist, sondern auch bzgl. der Spaltungsreaktion analoge Eigenschaften erzielt.
- Untersuchung und Charakterisierung der Entstehung eines Paternò-Büchi [2+2]-Cycloadditionsprodukts, das während der Bestrahlung durch einen Rayonet-Reaktor generiert wird. Hierbei galt es, zum einen die Spaltungsreaktion, aber zum andern auch die photoinduzierte Spaltungskinetik zu charakterisieren.
- Die Entwicklung eines neuen Wirkstoff-Linker-Systems. Dabei wurde ein Wirkstoff gewählt der zum einen in der Augenheilkunde bereits für den Off-Label-Use zur Behandlung verwendet wird <sup>[35,157]</sup>, und zum anderen aufgrund seines Molekülgerüsts in der Lage ist, photochemische Cycloadditionsreaktion nach Woodward-Hoffmann einzugehen.

Dafür wurde Tranilast gewählt und mit dem Linker Coumarin durch photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition ein Kreuzdimer erzeugt, dessen Spaltungseigenschaften analysiert werden sollen.

Folgende Systeme wurden in dieser Arbeit synthetisiert und in nachfolgenden Untersuchungen analysiert und charakterisiert:



**Abbildung 2.1:** Polymere Drug-Delivery-Systeme: Chalkon-5-Fluoruracil funktionalisiertes Polymer (CFKD), 5-Fluoruracil-Homodimer Polymer (5-FUHD). Fluoreszierendes Polymer Trizyklus-Chalkon-Kreuzdimer funktionalisiertes (TCKD). Weitere Kreuzdimere Systeme, Chinin-Chalkon-Kreuzdimer (CCKD) als fluoreszierendes Kreuzdimer, Paternò-Büchi Cycloadditionsprodukt Benzophenon-H5FU-Kreuzdimer (BFKD). Neues Wirkstoff-Linker-System Tranilast-Coumarin-Kreuzdimer (TraCoumKD).

## 3 Ergebnisse und Diskussion

Die Grundidee der Wirkstoffimmobilisierung an einem polymeren Grundgerüst zur Behandlung der Folgen des sekundären Katarakts wurde bereits in früheren Arbeiten aufgegriffen [23, 117, 143, 156]. Zunächst wurde Coumarin als Linkerstruktur aufgrund der guten photochemischen Eigenschaften und der effektiven Ausbeute bei der [2+2]-Cycloadditionsreaktion gewählt [117, 143, 156]. Es wurden Coumarin-Homodimere erzeugt, wobei ein Coumarin-Molekül an das Zytostatikum 5-Fluoruracil gekoppelt und das andere an dem Polymerrückgrat copolymerisiert wurde [117, 143].

Der nächste Schritt beinhaltete die Kopplung des Linker-Moleküls direkt an den Wirkstoff. Auch hier wurden die ausgezeichneten photoaktiven Eigenschaften des Coumarins genutzt, um mit Heptanoly-5-Fluoruracil Kreuzdimere auszubilden. Die daraus gewonnen Coumarin-H5FU-Kreuzdimere wurden nach weiteren Reinigungsschritten an das Polymer copolymerisiert [117, 143].

Die Funktionalität des Kreuzdimers wurde durch Zelltests überprüft (Verwendung an einem Pankreastumorzellenmodell). Durch Bestrahlung des Polymers wurde das Zytostatikum H5FU freigesetzt. Durch die daraus resultierende Zellapoptose konnte geschlossen werden, dass das System reversibel, durch die [2+2]-Cycloreversion, gespalten und zum anderen genügend Wirkstoff freigesetzt werden konnte, damit die Apoptose der Linsenepithelzellen einsetzte [143].

Um eine bessere Quantenausbeute und dadurch eine bessere Freisetzungsrates des Wirkstoffes zu gewährleisten, wurden weitere Linkerstrukturen untersucht.

Eine potentielle Linkerstruktur, die untersucht wurde, war Naphtalenon. H5FU wurde direkt an den Linker durch [2+2]-Cycloaddition über die Bildung eines Cyclobutanrings gebunden [23]. Aufgrund der KKK-Regel (Kälte-Katalysator-Kern-Regeln) war diese Kombination thermisch instabil und zerfiel Wärme-induziert durch Radikalbildung [23, 32].

In diesem Fall war es wichtig ein System zu wählen, das einerseits thermisch stabil ist und andererseits eine hohe Ausbeute und gute Reproduzierbarkeit ermöglicht.

Aufgrund dessen wurde das von Frau Dr. Liese entwickelte Wirkstoff-Linker-System be-

stehend aus Chalkon als Linker und H5FU als zytostatisch wirksames Agens verwendet. Um eine geeignete Menge an Kreuzdimer zu erzeugen wurden die Synthesen und Reinigungen modifiziert. Das Polymer wurde mit einem UV-Absorber versehen. Dies ist zum einen nach DIN ISO Norm 11975-5 gefordert und ermöglicht zum anderen die Untersuchung der Auswirkung des UV-Absorbers auf die photochemische Spaltungsreaktion des Kreuzdimers.

Als weiteres System wurden H5FU-Homodimere als Drug-Linker-System untersucht. Dieses Dimer versprach einen hohen Umsatz an Material und eine leichte Aufreinigung. Um die Kinetik der Freisetzung besser beurteilen und vorausschauen zu können, wurde ein Polymer entwickelt, das sowohl die Linker-Komponente des Chalkons aufweist als auch ein fluoreszierendes Agens, welches den Wirkstoff ersetzte.

Dieser Farbstoff wurde wie der Wirkstoff 5-FU durch photoinduzierte Reaktion wie Ein-Photonen-Absorption bei 266 nm und Zwei-Photonen-Absorptionsprozesse bei 532 nm durch Cycloreversion des Cyclobutanrings freigesetzt.

Durch fluoreszenzspektroskopische Aufnahmen mit einer speziellen Kameraausrüstung war es möglich die Freisetzung in situ zu dokumentieren. Es wurde gezeigt wann, wie und wo der Farbstoff nach dem jeweiligen Bestrahlungsintervall diffundierte.

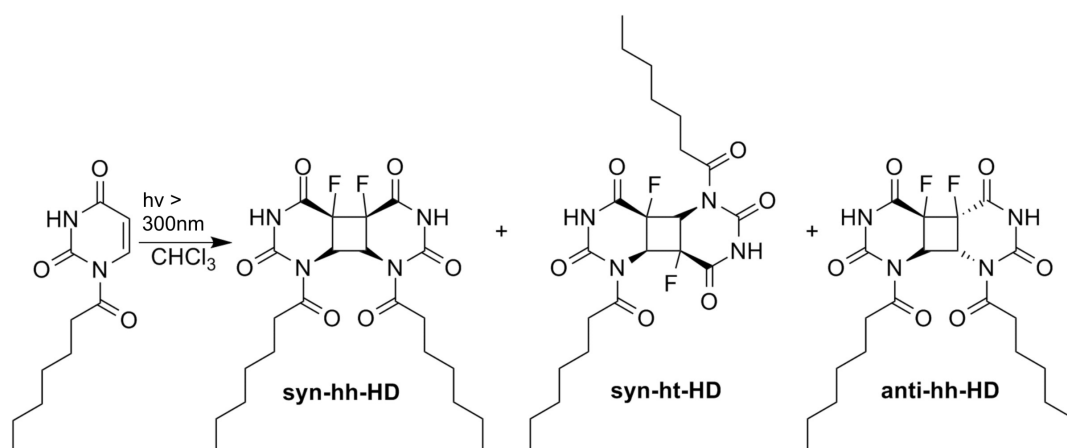
Des Weiteren ergaben die Untersuchungen nach erfolgreicher [2+2]-Cycloadditionsreaktion via Rayonet-Reaktor, dass der Photosensibilisator Benzophenon nicht nur zur Stabilisierung des, bei der [2+2]-Cycloaddition hervorgerufenen, Triplettzustand des Linker-Moleküls dient, sondern selbst eine Reaktion mit dem Wirkstoffmolekül eingeht. Es bilden sich durch die bekannte Paternò-Büchi-Reaktion Oxetane zwischen Benzophenon und 5-FU aus.

Die photochemischen Eigenschaften dieser entstandenen Oxetan-Verbindung wurden durch verschiedene Photoreaktionen und analytischen Methoden näher untersucht.



### 3.1 Heptanoyl-5-Fluoruracil-Homodimere (H5FU-HD)

Wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben wurden die H5FU-Homodimere durch Exposition mit dem Rayonet-Reaktor erzeugt. Dabei entstanden drei nachweisbare Isomere des Homodimers: syn-head-to-head-, syn-head-to-tail-, und anti-head-to-head-HD. Für die Identifizierung der Konfiguration wird von der Stellung der Carbonylverbindungen ausgegangen, die zu den Cyclobutanringen benachbart sind.



**Abbildung 3.1:** Synthese der H5FU-Homodimere im Rayonet-Reaktor.

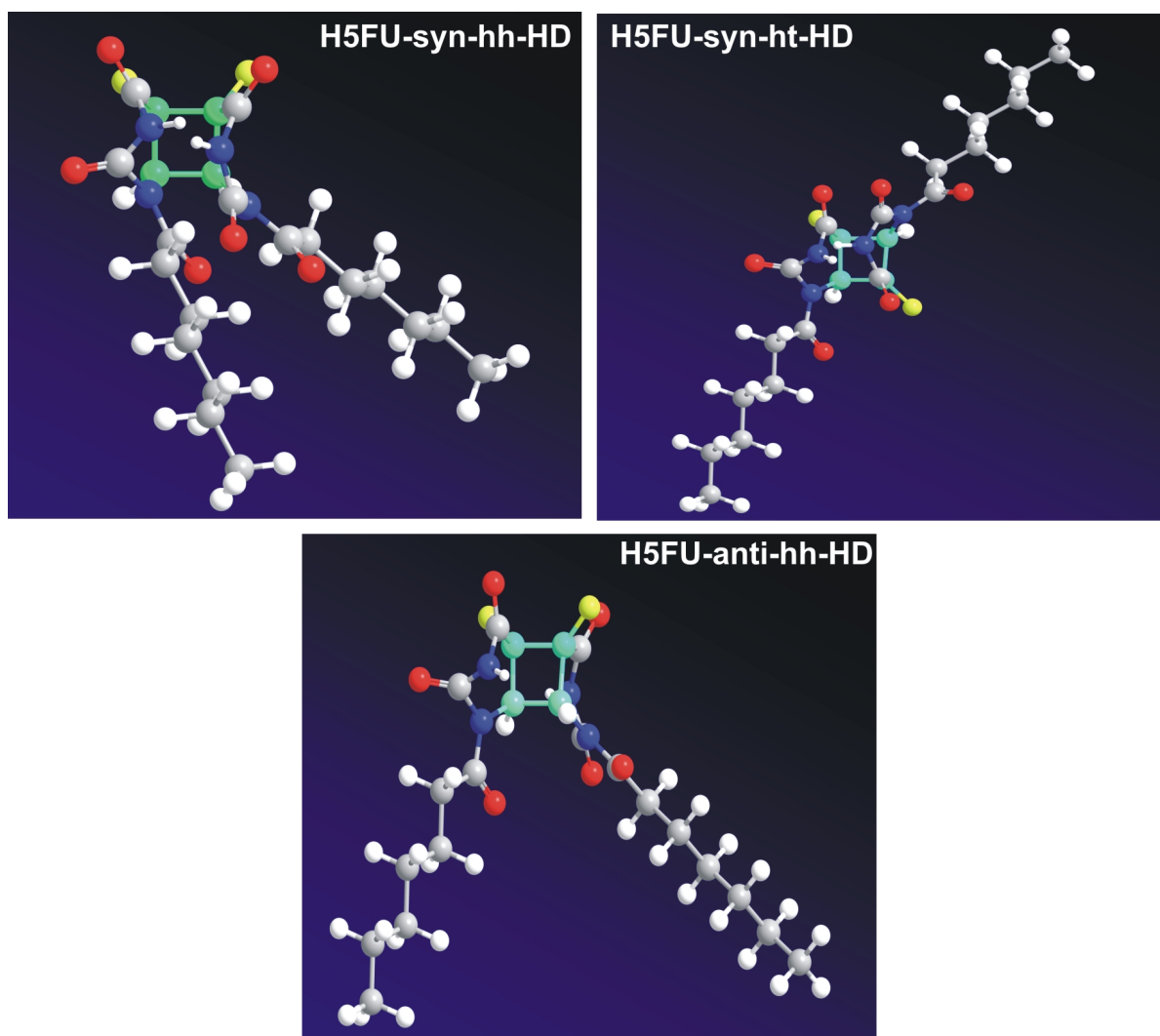
Die Isomere wurden wie in Kapitel 4.3.2 beschrieben über eine präparative HPLC gereinigt. Aufgrund der unterschiedlichen Konfigurationen zeigen die Isomere unterschiedliche physikochemische Eigenschaften bezüglich der Löslichkeit, Hydrolysekinetik und Spaltungsreaktion der [2+2]-Cycloreversion.

### 3.2 Konfiguration der H5FU-Homodimere

Die Konfiguration der Isomere wurde über 2D-NMR Experimente wie NOESY, COSY und HMBC bestimmt (Kapitel 4.2.1). Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Homodimere, der Heptanoyl-Schutzgruppen, die mit- und untereinander wechselwirken, und die jeweiligen Fluoratome, die die Aufspaltung der Signale der H-Atome im Cyclobutanring stören können, erschweren eine konkrete Unterscheidung der absoluten Konfiguration.

Die erzielten Resultate der SPA- und TPA-Experimente zeigten, dass sowohl die Ein-Photonen- als auch die Zwei-Photonen-Quantenausbeuten erhebliche Unterschiede aufwiesen.

Es liegt nahe, dass diese Unterschiede in den physikochemischen Eigenschaften aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Heptanoylschutzgruppen und zu den Cyclobutanringen direkt benachbarten Fluoratomen begründet sind. Durch die NMR-Messungen konnten drei verschiedene Konfigurationen charakterisiert werden (Abb. 3.2: syn-head-to-head, syn-head-to-tail und anti-head-to-head).



**Abbildung 3.2:** Konfiguration der einzelnen H5FU-Homodimere (türkis=Cyclobutanring, grau=Kohlenstoff, rot=Sauerstoff, weiß=Wasserstoff, gelb=Fluor).

Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zwischen Coumarin- und H5FU-Homodimeren, wiesen beide Moleküle in der Nähe des Cyclobutanrings sowohl eine Carbonylgruppe, als auch ein aromatisches Ringsystem auf, was die Charakterisierung durch 2D-NMR Spektroskopie erforderlich machte. Berechnungen basierend auf diesen Tatsachen er-

gaben, dass sich sowohl die Bindungslängen als auch die Bindungswinkel innerhalb des Cyclobutanrings (türkis) und der Coumarin- und H5FU-Homodimere ähneln. Die Struktur wurde mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse charakterisiert.

Für H5FU-Homodimere wurden Bindungslängen innerhalb des Cyclobutanrings von 1,50 Å bestimmt, die Bindungswinkel lagen zwischen 88,1 und 90° und zeigten somit eine beinahe Übereinstimmung mit den Dicoumarinen, dessen Bindungslänge bei 1,55 Å und deren Bindungswinkel bei 88-90° lagen [123,158].

Wie von M.D'Auria et al. [159] beschrieben, weisen die unterschiedlichen Homodimere unterschiedliche Quantenausbeuten auf, wobei syn-hh die beste und anti-ht die schlechteste Ausbeute aufwiesen.

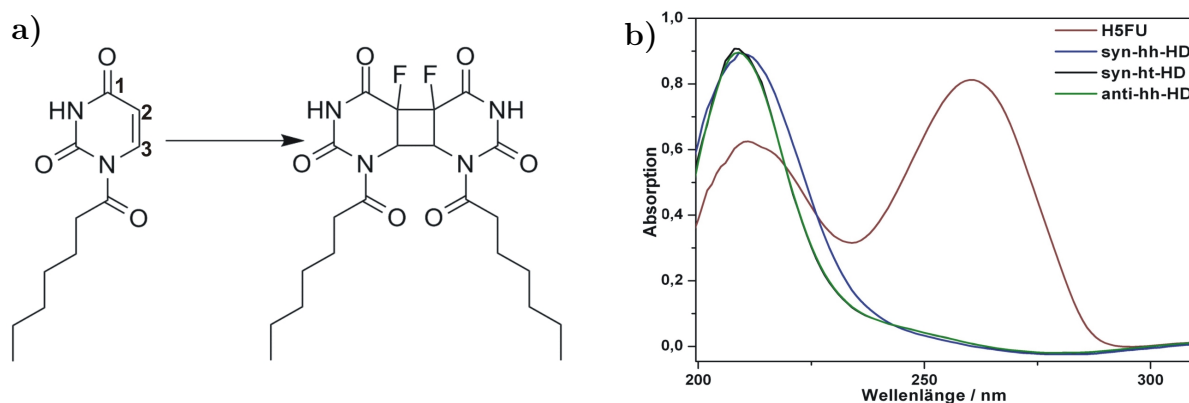
Aufgrund dieser Tatsachen und den gemessenen Quantenausbeuten der H5FU-Homodimere lässt sich daraus schließen, dass die absolute Konfiguration der Dimere Auswirkungen auf die [2+2]-Cycloreversions-Kinetik hat.

### 3.3 Photochemische Eigenschaften von H5FU-HD

H5FU weist zwei charakteristische Absorptionsbanden auf. Das Absorptionsmaximum bei 211 nm wird wahrscheinlich durch die Carbonylfunktion an Position 1 durch den bekannten  $n \rightarrow \pi^*$  Übergang hervorgerufen [160,161].

Das zweite Absorptionsmaximum liegt wie bereits bei den Cumarinen bekannt bei 260 nm und wird durch den  $\pi \rightarrow \pi^*$  Übergang verursacht, welcher dem konjugierten  $\pi$ -System an Position 2 und 3 zuzuschreiben ist [162,163].

Durch die photochemisch induzierte [2+2]-Cycloaddition bildet sich der Cyclobutanring aus. Dies erklärt das Eliminieren des zweiten Absorptionsmaximums bei 260 nm bei den Homodimeren (Abb. 3.3).



**Abbildung 3.3:** a) Struktur von H5FU und dem H5FU-Homodimer b) UV-Spektren der Isomere und H5FU.

Die Bestimmung der Extinktionskoeffizienten erfolgte bei 266 nm, da die Ein-Photonen-Spaltungsreaktionen bei 266 nm durchgeführt wurden.

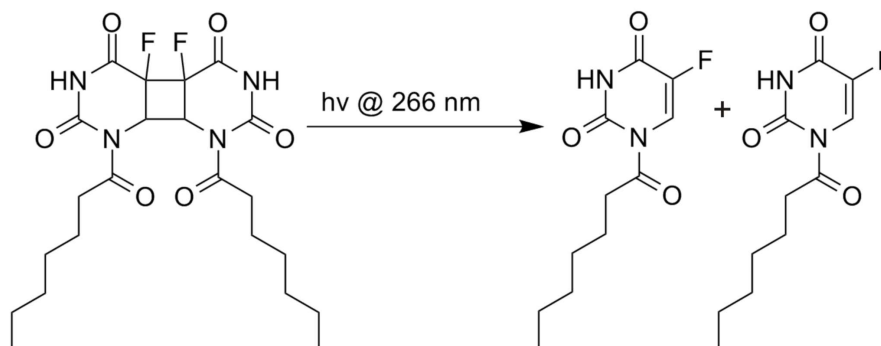
Die Extinktionskoeffizienten der einzelnen Isomere wurden durch eine Verdünnungsreihe bestimmt und wiesen untereinander signifikante Unterschiede auf (Tab. 3.1). Dabei ergab sich folgende Reihenfolge: syn-hh-HD > anti-hh-HD > syn-ht-HD. Diese Reihenfolge wurde als erstes Indiz betrachtet, welches Isomer die besseren photochemischen Eigenschaften bei den Ein- und Zwei-Photonenreaktionen aufweisen könnte.

Mono-und Dimer-Moleküle	$\epsilon_{266}(\frac{L}{mol \times cm})$
<b>H5FU</b>	$6.279,07 \pm 43,04$
<b>syn-hh-HD</b>	$346,58 \pm 31,05$
<b>syn-ht-HD</b>	$163,97 \pm 4,45$
<b>anti-hh-HD</b>	$178,42 \pm 11,62$

**Tabelle 3.1:** Molare Extinktionskoeffizienten bei 266 nm von H5FU und der drei Homodimere (syn-hh-, syn-ht-, anti-hh-HD), ermittelt in Acetonitril.

### 3.4 SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der H5FU-Homodimere

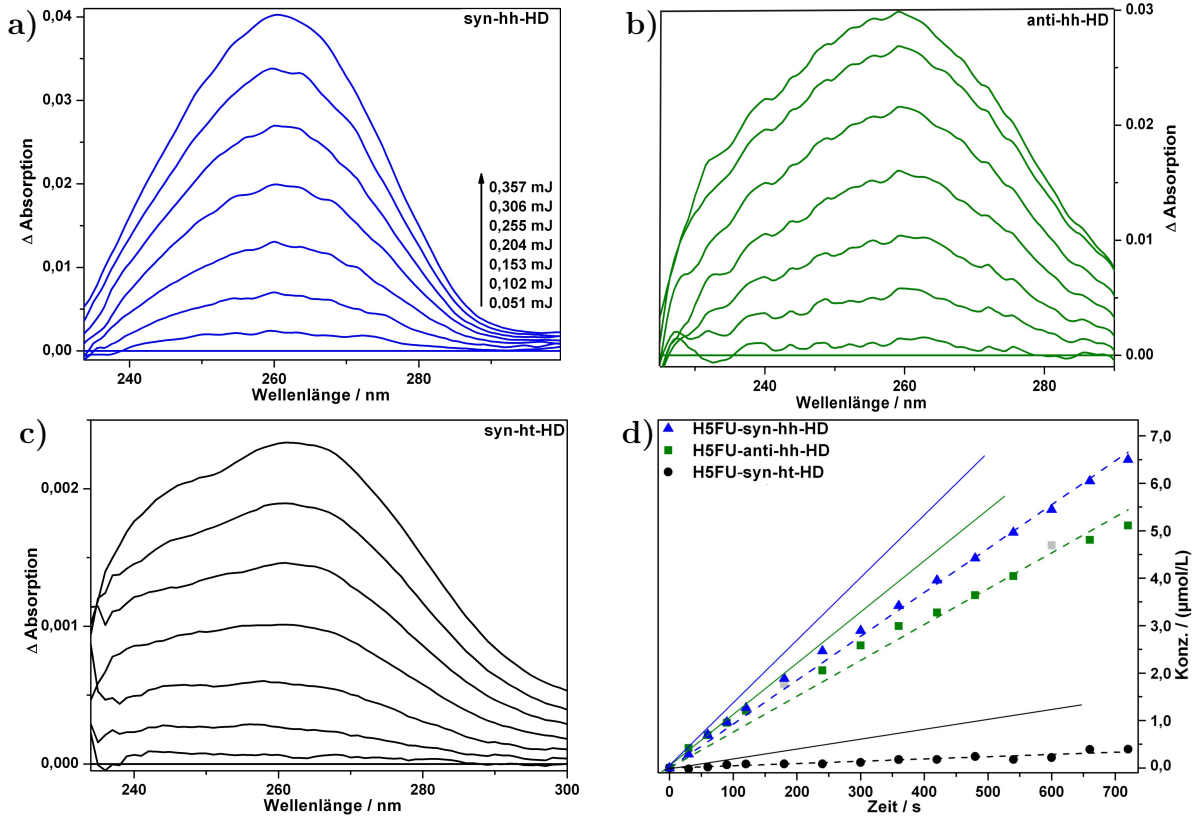
Für alle Dimere wurden SPA- und TPA-Experimente durchgeführt. Dies erfolgte, um zum einen ihre photochemischen Eigenschaften bei diesen Spaltungsreaktionen zu quantifizieren und zum anderen das Isomer mit der besten Spaltungsrate zu identifizieren, um es somit für die Entwicklung des Polymers einzusetzen.



**Abbildung 3.4:** Ein-Photonen induzierte Spaltungsreaktion durch Bestrahlen des Homodimers bei 266nm.

Die Bestimmung der SPA wurde wie in Kapitel 4.4.2 beschrieben in Acetonitril durchgeführt und nach Gleichung 1.3 (Kapitel 1.4) berechnet.

Für die Messungen wurde eine Konzentration von 0,14 mmol/L gewählt. Um die Freisetzung von 5-Fluoruracil (5-FU) nachzuweisen, wurde die Messung bei 0 s von den nachfolgenden Messungen bis einschließlich 720 s abgezogen (Abb. 3.5).



**Abbildung 3.5:** a)-c) Zeigen UV-Differenzspektren der jeweiligen Homodimere a) syn-hh; b) anti-hh; c) syn-ht; d) Zunehmende Monomerkonzentration in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit.

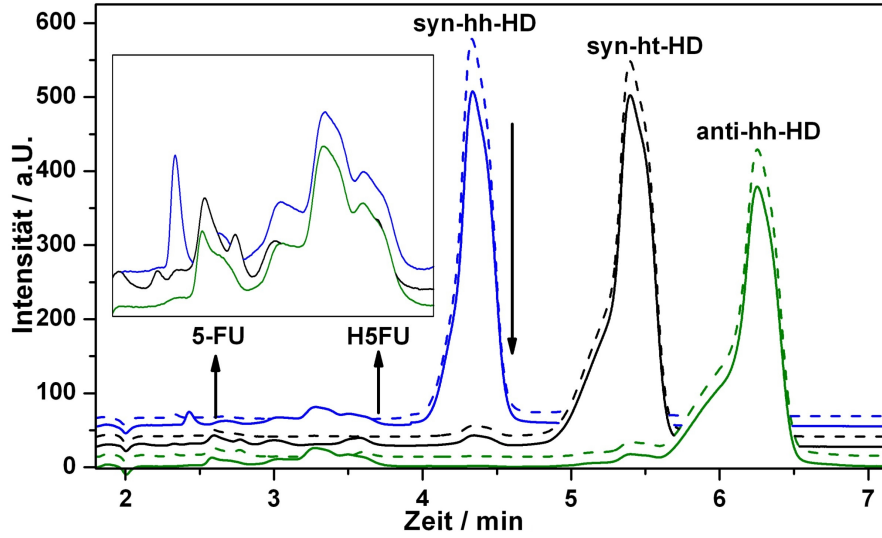
Die Anfangsgeschwindigkeiten zeigten für die einzelnen Homodimere signifikante Unterschiede (Abb.3.5 d) und nahmen wie folgt ab (Tab. 3.2): syn-hh-HD > anti-hh-HD > syn-ht-HD.

Daraus ergaben sich für die jeweiligen Isomere folgende Quantenausbeuten:

- i syn-hh-HD  $\Phi_{SPA}=0,0276$ ,
- ii syn-ht-HD  $\Phi_{SPA}=0,0098$ ,
- iii anti-hh-HD  $\Phi_{SPA}=0,0174$ .

Dieses Ergebnis bestätigte die These, dass mit dem Isomer syn-ht-HD, welches den kleinsten Extinktionskoeffizienten aufwies, die kleinste Quantenausbeute erzielt wurde. Sie war um den Faktor 2,79 kleiner.

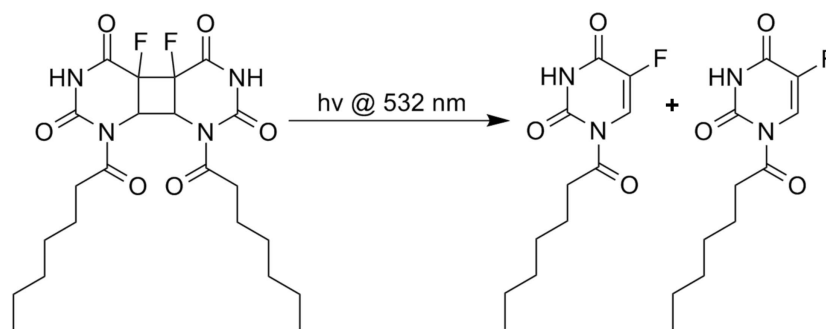
Die Ein-Photonen-Spaltungsreaktion wurde zusätzlich durch HPLC verfolgt und charakterisiert (Abb. 3.6). Auch hier wird deutlich, dass syn-ht-HD mit ca. 0,1 % am wenigsten 5-FU beziehungsweise H5FU freisetzt. Syn-hh-HD weist mit 2,76 % die höchste Spaltungsrate auf, gefolgt von anti-hh-HD mit 1,74 %, was das Ergebnis der UV-Messungen bestätigte.



**Abbildung 3.6:** Charakterisierung der der SPA-Reaktion durch HPLC-Messung (gestrichelte Linie vor Bestrahlung, durchgezogene Linie nach Bestrahlung).

Stereoisomer	$v_0$ ( $\text{mol} \times \text{s}^{-1} \times \text{L}^{-1}$ )	$n_{\text{mol}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$\Phi_{\text{SPA}}$ (%)
syn-hh-HD	$8,92 \times 10^{-9}$	$8,42 \times 10^{10}$	2,76
syn-ht-HD	$4,96 \times 10^{-9}$	$0,99 \times 10^{10}$	0,98
anti-hh-HD	$6,99 \times 10^{-9}$	$7,06 \times 10^{10}$	1,74

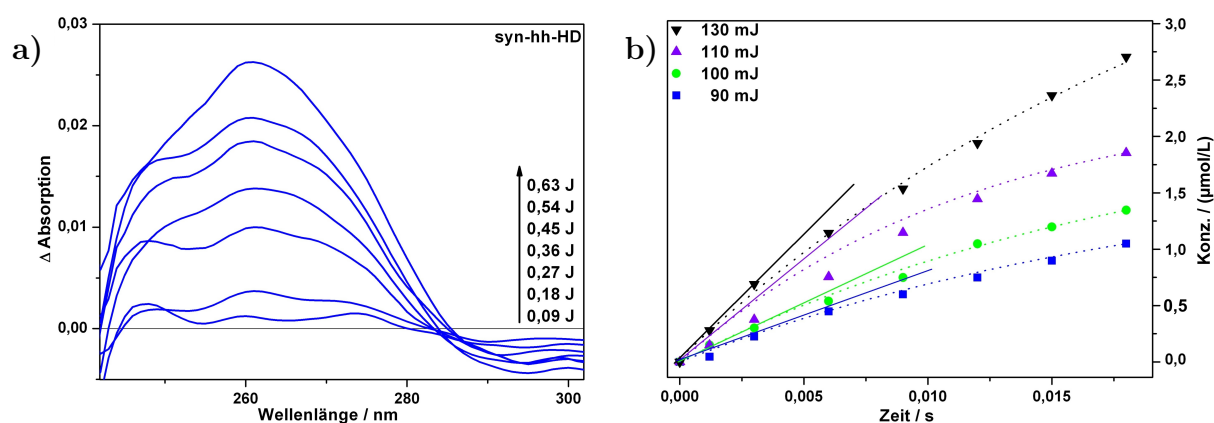
**Tabelle 3.2:** Photochemische Parameter der H5FU-Homodimere, ermittelt aus den Resultaten der SPA-Experimente.



**Abbildung 3.7:** Zwei-Photonen induzierte Spaltungsreaktion durch Bestrahlen des Homodimers bei 532 nm.

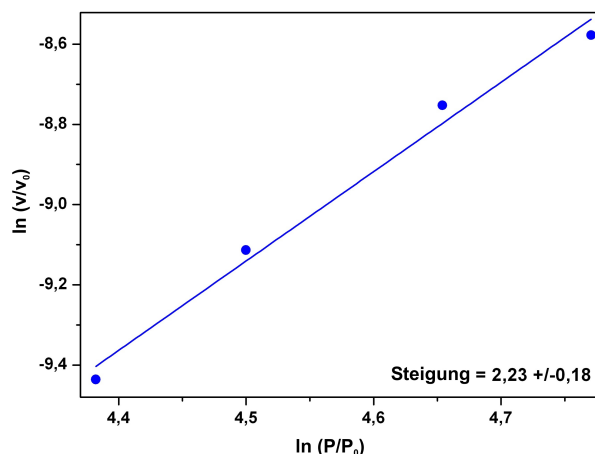
Die Zwei-Photonen-Absorptions-Experimente wurden wie in Kapitel 4.4.3 beschrieben in Acetonitril durchgeführt. Hierbei wurde jeweils eine Konzentration der Isomere von 0,21 mmol/L gewählt und die Änderung der H5FU-Konzentration mit Hilfe der UV-Spektroskopie verfolgt (Abb. 3.8). Hierbei ergab sich, dass die freigesetzte H5FU-Konzentration proportional zur eingestrahnten Laserenergie ist. Für alle Isomere wurde die TPA induzierte Spaltungsreaktion jeweils bei vier verschiedene Energien gemessen und bei einer Pulsfrequenz von 40 Hz durchgeführt.

Für die TPA-Messung des Isomers syn-head-to-head-H5FU-HD wurden folgende Energien gewählt: 90 mJ, 100 mJ, 110 mJ und 130 mJ.



**Abbildung 3.8:** a) UV-Differenzspektren aufgenommen nach dem jeweiligen Bestrahlungsintervall. b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und der freigesetzten 5-FU-Konzentration.





**Abbildung 3.9:** Doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  gegen die Pulsleistungen.

Um die freigesetzte Konzentration an H5FU zu bestimmen wurde die Differenz der Absorption bei 266 nm verwendet. Der Extinktionskoeffizient von H5FU bei 266 nm beträgt  $6736,05 \pm 40,25 \text{ mol} \times \text{L}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ .

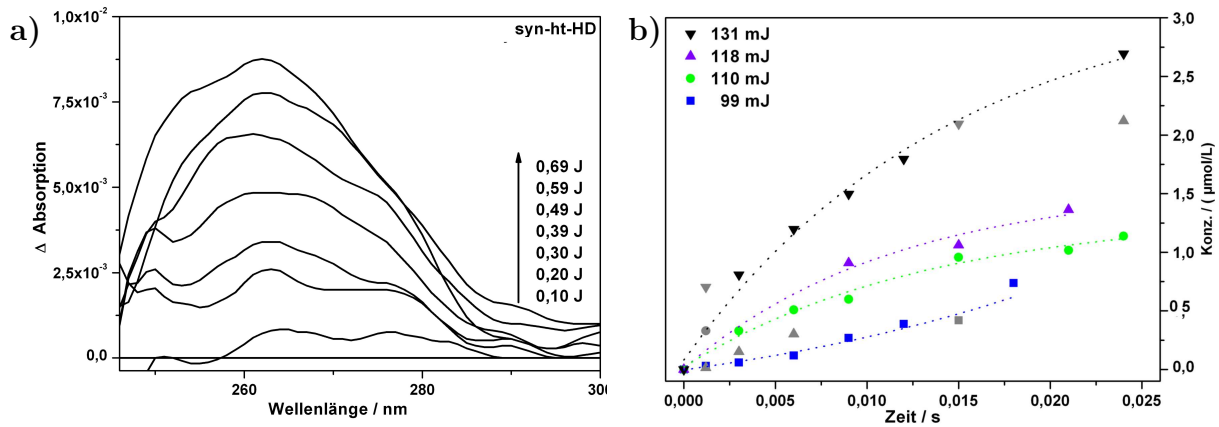
Aus den ermittelten Werten konnte eine doppeltlogarithmische Auftragung (Abb. 3.9) erzeugt werden, die den Wert  $2,23 \pm 0,18$  ergab, somit einer Zwei-Photonen-Natur folgt, und dadurch mit dem aus der Theorie <sup>[45]</sup> bekannten Wert von 2 korreliert.

Der Zwei-Photonen-Querschnitt wurde über die Gleichung 1.13 (Kapitel 1.5) bestimmt und betrug für das Homodimer der Konfiguration syn-head-to-head 0,58 GM. Damit ist er um 42 % geringer als der in der Literatur publizierte Wert für das Coumarin 5-FU Kreuzdimer <sup>[119]</sup>. Allerdings wird noch genügend 5-FU freigesetzt, um effektiv PCO behandeln oder sogar vorbeugen zu können <sup>[139]</sup>.

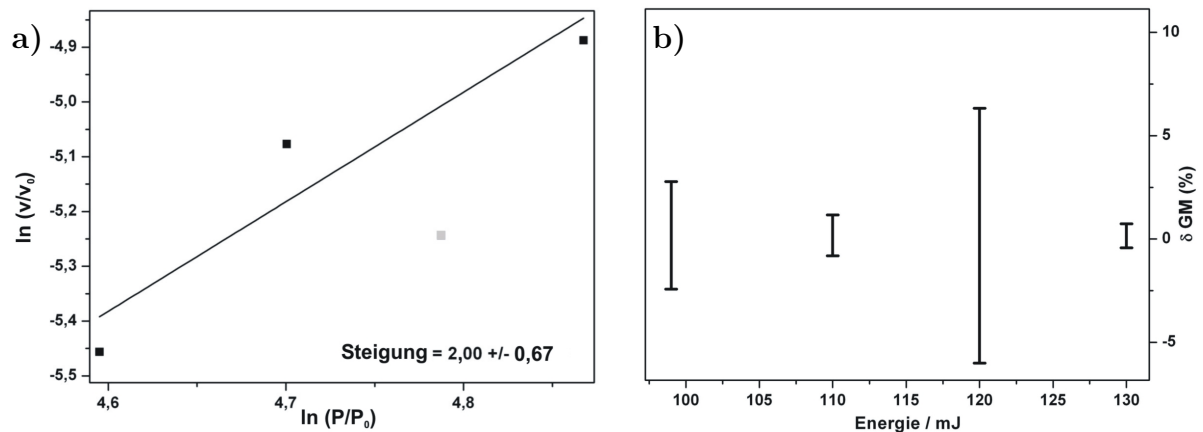
Um die Freisetzung von H5FU zu bestätigen wurden parallel HPLC-Messungen durchgeführt. Wie in Abb 3.10 a) ist aus den Spektren zu erkennen, dass H5FU freigesetzt wurde und 5-FU entstanden ist.

Dies ist darauf zurückzuführen, dass die HPLC mit einer Mischung 70/30 ACN/H<sub>2</sub>O (angesäuert mit 0,3 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), wie in Kapitel 4.2.2 beschrieben, durchgeführt wurde. Diese Mischung kann zu einer Hydrolyse der Heptanolyschutzgruppe von H5FU führen und erklärt somit das entstandene 5-FU.

Die TPA-Messungen des Isomers syn-head-to-tail-H5FU-HD wurden analog bei vier Energien durchgeführt: 99 mJ, 110 mJ, 118 mJ und 131 mJ bei einer Pulsfrequenz von 40Hz.



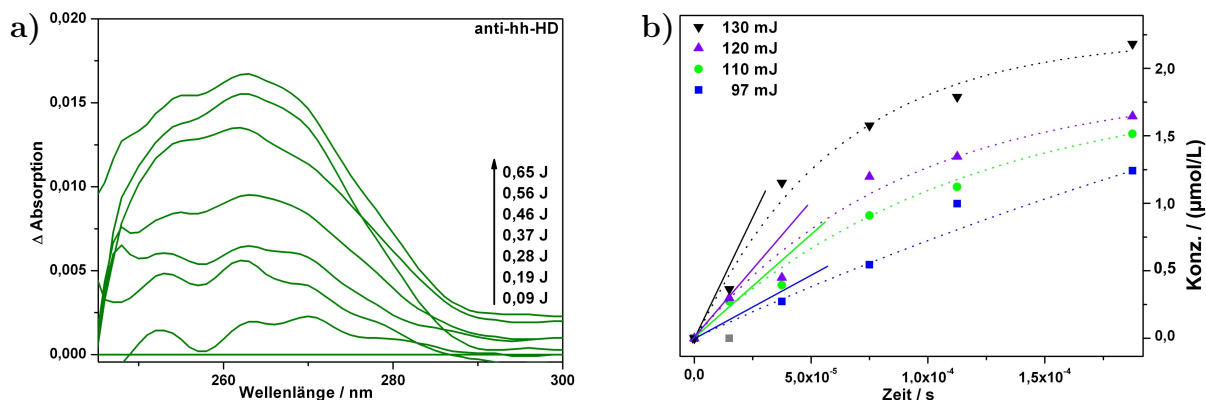
**Abbildung 3.10:** a) UV-Differenzspektren nach dem jeweiligen Bestrahlungsintervall aufgenommen. b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und der freigesetzten 5-FU-Konzentration.



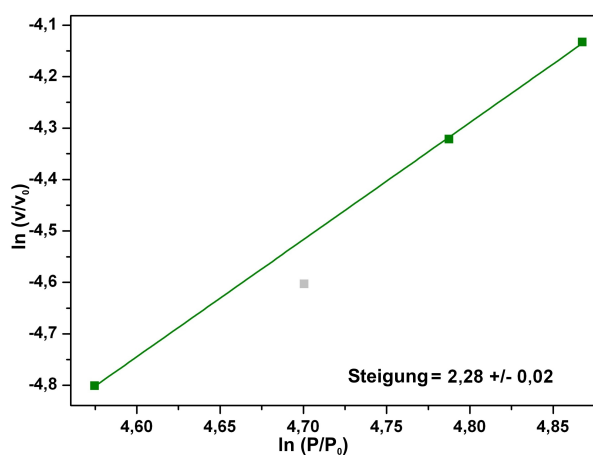
**Abbildung 3.11:** a) Doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  gegen die Pulsleistungen. b) Fehlerbreite der jeweiligen GM-Werte.

Der Zwei-Photonenquerschnitt für das Isomer syn-head-to-tail-H5FU-HD liegt bei  $2,00 \pm 0,66$ . Allerdings weist der Plot bedingt durch die Messchwankungen bei 118 mJ eine relativ hohe Abweichung auf, was wiederum auf die geringe Spaltungsfrequenz und damit geringen Änderung der Absorption bei 266 nm zurückzuführen ist. Dies wird auch durch den Plot in Abb. 3.11 b) verdeutlicht.

Für die TPA-Messung des Isomers anti-head-to-head wurden vier Energien gewählt: 97 mJ, 110 mJ, 120 mJ und 130 mJ und einer Pulsfrequenz von 40 Hz.



**Abbildung 3.12:** a) Änderung der Absorption von anti-hh-HD im UV-Spektrum in Abhängigkeit von der eingestrahltten Energie. b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und der freigesetzten 5-FU-Konzentration.



**Abbildung 3.13:** Doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  gegen die Pulsleistungen.

Der Zwei-Photonenquerschnitt für das Isomer anti-head-to-head-H5FU-HD wurde zu 0,3 GM bestimmt. Die doppeltlogarithmische Auftragung ergab einen Wert von  $2,28 \pm 0,02$ , was der Spaltungsreaktion einer Zwei-Photonen-Absorption folgt.

Stereoisomer	Pulsenergie (mJ)	$v_0$ mol/L	$\delta$ GM	Mittelwert $\delta$ GM
<b>syn-hh</b>	90	$9,09 \times 10^{-5}$	0,52	0,58
	110	$1,34 \times 10^{-4}$	0,59	
	118	$1,58 \times 10^{-4}$	0,57	
	130	$2,00 \times 10^{-4}$	0,63	
<b>syn-ht</b>	98,5	$4,94 \times 10^{-5}$	0,18	0,17
	110	$6,19 \times 10^{-5}$	0,18	
	118	$6,49 \times 10^{-5}$	0,18	
	131	$7,73 \times 10^{-5}$	0,16	
<b>anti-hh</b>	92,5	$7,98 \times 10^{-5}$	0,23	0,26
	110	$1,10 \times 10^{-4}$	0,26	
	120	$1,54 \times 10^{-4}$	0,27	
	130	$1,88 \times 10^{-4}$	0,26	

**Tabelle 3.3:** Zusammenfassung der Werte aus der photochemischen Spaltung der H5FU-Homodimer Isomere durch TPA-Experimente.

Wie in Tab. 3.3 aufgelistet, hat sich aus den TPA-Experimenten für die GM-Werte folgende Reihenfolge ergeben: syn-hh-HD > anti-hh-HD > syn-ht-HD. Die Goeppert-Mayer Werte sind niedriger als die der Coumarin-Kreuzdimeren. Allerdings wird genügend 5-FU freigesetzt, um pharmakologische Effekte bei der Behandlung des sekundären Kataraktes (PCO) zu erzielen <sup>[139]</sup>.

Die Resultate bestätigen den Zusammenhang zwischen dem Extinktionskoeffizient bei 266 nm und der Spaltungsrate sowohl bei den SPA- als auch bei den TPA-Experimenten. Da die Dimere bei der anzuregenden Wellenlänge von 266 nm kaum Absorption zeigten, wiesen sie dementsprechend eine geringere [2+2]-Cycloreversionsrate auf.

Für weitere Untersuchungen wurde das Isomer gewählt, welches die besseren photochemischen Eigenschaften sowohl bei den SPA- als auch bei den TPA-Prozessen aufwies, um es für die Polymerisation zu verwenden. In diesem Fall war es das H5FU-HD mit der Konfiguration syn-head-to-head.

### 3.5 Photochemisch spaltbare Linkersysteme zur Entwicklung von wirkstoffbeladenen Polymeren

Sowohl bei den Homo- als auch Kreuzdimer-Systemen wurden die Schutzgruppen durch Hydrolyse gespalten (Kapitel 4.5.3) und durch Steglich-Veresterung mit Methacrylsäure zum Monomer umgewandelt. Dieses Drug-Linker-Monomersystem konnte anschließend mit einer Monomermischung bestehend aus HEMA/MMA copolymerisiert werden (Kapitel 4.6.1).

Dadurch, dass die entschützten 5-FU-Homodimere eine schlechte Löslichkeit in Wasser aufwiesen, wurde zunächst das bekannte System von Härtner et al. <sup>[31]</sup> synthetisiert. D.h., das Homodimer wurde thermisch in das Polymer copolymerisiert. Allerdings diffundierte das Homodimer aus dem Polymer, nachdem es autoklaviert wurde. Dies wurde über eine HPLC-Messung wie in Kapitel 3.8 beschrieben überprüft.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde das H5FU-Homodimer photochemisch copolymerisiert. Diese Methode wurde auch für die CKD- und TCKD-Dimere angewandt, da die photochemisch induzierte Polymerisation nur einer Reaktionszeit von maximal 4 h bedarf und somit die Kreuz- und Homodimere weniger physikalischer Belastung ausgesetzt war, als bei der thermischen Polymerisation, die drei Tage Reaktionszeit benötigt.

Das erhaltene Material war optisch klar und transparent. Sowohl die CKD- als auch TCKD-Polymere waren leicht gelblich verfärbt, was auf das chromophore System der Linkersysteme bzw. des Farbstoffs Trizyklus zurück zu führen war.



**Abbildung 3.14:** 5-FU-syn-hh-HD copolymerisiert zu einem wirkstoffbeladenen Polymer.

Aus den erhaltenen Polymerplatten wurden durch einen CO<sub>2</sub>-Laser Polymer-Ronden geschnitten. Diese Ronden besaßen einen Durchmesser von 1 cm.

Jede Ronde wog ca. 12,8 mg (ca. 60-80 mg im gequollenen Zustand). Die Polymere wurden mit 2,0-2,5 % Dimer copolymerisiert, was einem Wirkstoffgehalt an 5-FU am Beispiel von 5-FU-syn-hh-HD von 320 µg entspricht.

## 3.6 Freisetzungskinetik von 5-FU aus dem Polymermaterial

Es wurden zwei Varianten an Polymermaterial hergestellt: **i)** mit und **ii)** ohne UV-Absorber. Die bisher entwickelten Drug-Linker-Systeme wurden bisher ohne UV-Absorber einpolymerisiert. Laut DIN ISO Norm 13485:2003 wird gefordert, dass das Polymermaterial von Intraokularlinsen einen UV-Absorber enthält (DIN ISO 1975-5), da laut Studien bekannt ist, dass rund 3 % der UV-Strahlung durch die Cornea gelangen. Diese können zu unerwünschten Reaktionen des Polymermaterials führen, was wiederum eine Veränderung dessen und eventuelle Freisetzung von Abbauprodukten nach sich ziehen würde. Aufgrund dieser Tatsachen wurden zwei copolymerisierte Drug-Linker-Systeme hergestellt. Dies dienten dazu, um durch verschiedene Experimente zu untersuchen, inwieweit der UV-Absorber auf die photochemische Spaltungskinetik und Freisetzungskinetik einen Einfluss ausübt.

Bevor die Freisetzungstests durchgeführt wurden, musste das Polymer über mehrere Wochen in Wasser bei Raumtemperatur quellen, damit nicht einpolymerisierte Komponenten wie Photostarter und Schutzgruppen aus dem Polymer diffundieren konnten. Die Quelllösung wurde durch HPLC-Messungen überprüft (Abb. 3.7). Dabei konnten Photostarter, Abbauprodukte der Photostarter und freigesetztes Monomer detektiert werden. Das mit UV-Absorber versetzte Polymer zeigte bei einer Retentionszeit von 4,5 min UV-Absorber, der nicht copolymerisiert wurde.

Bevor polymere IOLs verwendet werden, müssen diese sterilisiert werden. Dabei werden verschiedene Methoden angewandt, wie z.B. die Gassterilisation mit Ethylendioxid oder H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Niedrigtemperaturplasmasterilisation (NTP) oder die gängigste Methode, die Dampfdrucksterilisation (Autoklavieren) des Materials <sup>[164]</sup>.

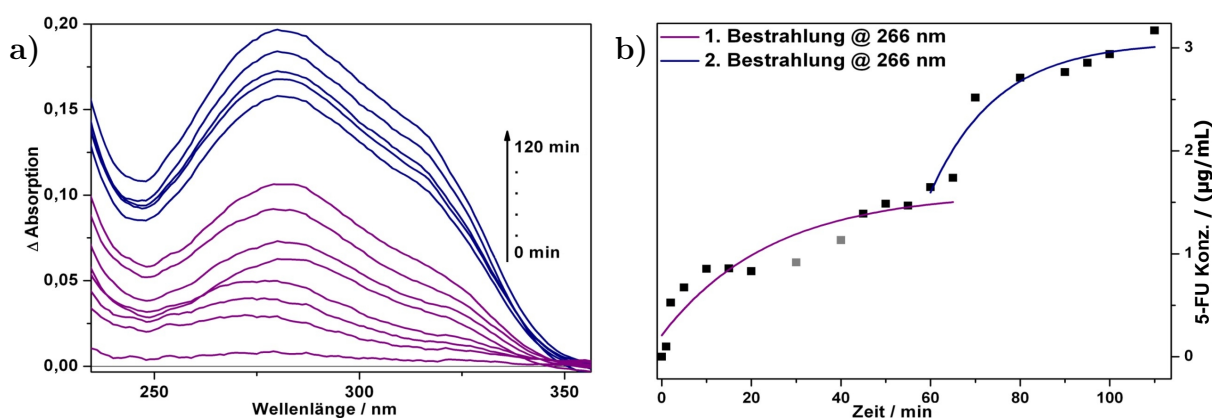
Hierfür wurden die Polymerproben, wie in Kapitel 4.2.8 beschrieben, sterilisiert. Mögliche diffundierte Bestandteile wurden durch Zugabe von Wasser in das jeweilige Gefäß gelöst und über HPLC-Chromatographie überprüft. Dabei wurde kein 5-FU festgestellt (Abb. 3.18 Kapitel 3.8).

Nachdem diese Tests durchgeführt wurden, konnte die Freisetzungskinetik des funktionalisierten Polymers durch Ein-Photonen- und Zwei-Photonen-Absorptionsexperimente untersucht werden.

### 3.7 Ein-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus funktionalisiertem Polymer

Für die SPA-Experimente wurden wie in Kapitel 1.5 bereits beschrieben ein Polymerstück mit den Maßen  $1,0\text{ cm} \times 1,0\text{ cm} \times 0,25\text{ cm}$  in einer Halterung fixiert und in einer mit 0,9 % NaCl-Lösung befüllten 2-Fensterglasküvette geschoben.

Anschließend wurde es 1 min bestrahlt und danach in festgelegten Zeitabständen ein UV/Vis-Spektrum aufgenommen. Um die absolute Konzentration des diffundierten 5-FU zu bestimmen, wurde ein Differenzspektrum gebildet und bei 266 nm der  $\Delta$  Absorptionswert bestimmt. Die Konzentration wurde mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten von 5-FU in 0,9 % NaCl ( $\epsilon_{266\text{nm}} = 6.019,95\text{ mol} \times \text{L}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ) bestimmt.



**Abbildung 3.15:** Ein-Photonen induzierte 5-FU-Freisetzung aus Polymer ohne UV-Absorber. a) UV-Differenzspektren, in einem bestimmten Zeitintervall aufgenommen wurden. b) Freigesetzte 5-FU Konzentration als Funktion der Zeit.

Wie in Abb. 3.15 zu sehen, kann die Freisetzung von 5-FU aus dem Polymer (ca. 12,8 mg trockene Ronde, ca. 80 mg gequollene Ronde, Beladung  $320\text{ }\mu\text{g}$ ) wiederholt durch Bestrahlung induziert werden.

Hierbei wurde das Polymer zweimal á 1 min mit einer UV-Lampe bestrahlt und anschließend die UV/Vis-Spektren nach bestimmten Zeitabständen gemessen.

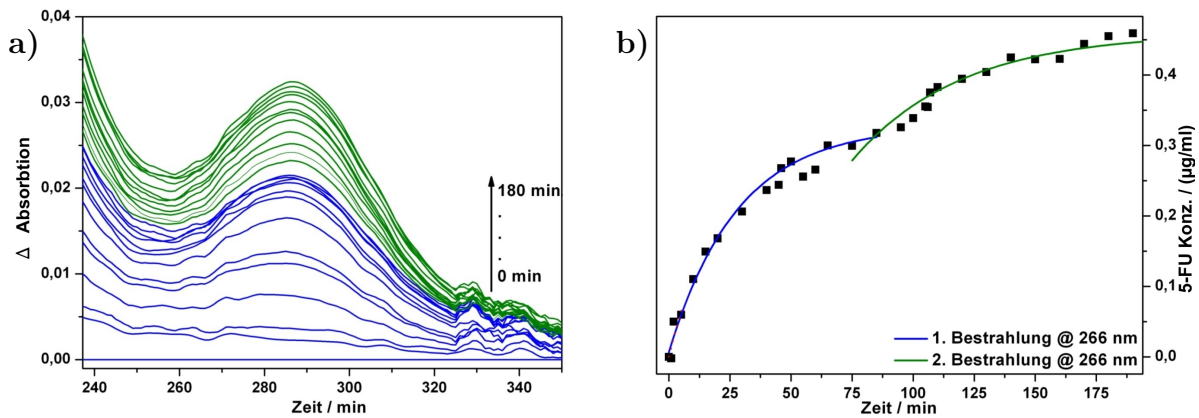
Insgesamt wurden nach drei Bestrahlungs- bzw. Freisetzungintervallen  $3,31\text{ }\mu\text{g/mL}$  5-FU freigesetzt. Dass entspricht 1,2 % der maximalen Beladung des Polymers. Die Freisetzungsgeschwindigkeit betrug  $0,0184\text{ }\mu\text{g/min}$ .

Die effektive Dosis für die Behandlung von sekundärem Katarakt ist zurzeit unbekannt. Freigesetzt wird aber weit mehr als benötigt. Allerdings wird durch den Ein-Photonen-

Prozess mehr Energie für die [2+2]-Cycloreversion verwendet.

Dieser Prozess ist wegen der Cornea nicht praktikabel und dient nur zur Überprüfung, inwieweit das System photoinduzierte Freisetzung ermöglicht und welche Freisetzungskinetik sich ergibt.

Zusätzlich konnte mit diesem Experiment bewiesen werden, dass bei diesem System eine wiederholbare Freisetzung möglich ist.



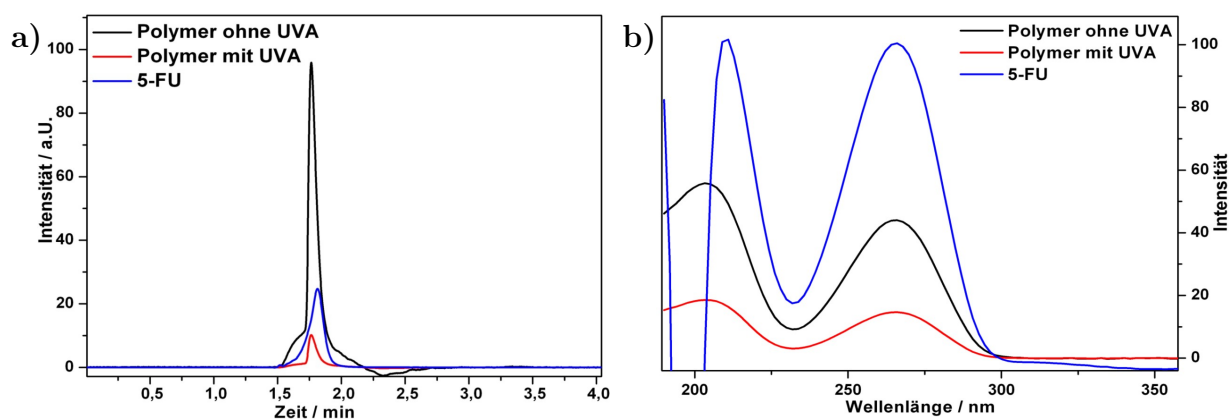
**Abbildung 3.16:** Ein-Photonen induzierte 5-FU-Freisetzung aus Polymer mit UV-Absorber. a) UV-Differenzspektren die in einem bestimmten Zeitintervall aufgenommen wurden. b) Bestimmung der freigesetzten 5-FU Konzentration.

Analog zu der Polymerprobe ohne UV-Absorber wurde das SPA-Experiment mit dem Polymer dem ein UV-Absorber zugesetzt war (1 % BHP-EA) durchgeführt (Abb. 3.16). Es wurden insgesamt 0,48 µg/mL freigesetzt. Da der UV-Absorber in dem Bereich von 266 nm auch Absorption zeigt (Kapitel 3.8) stehen dem System weniger Photonen für die [2+2]-Cycloreversionsreaktion zur Verfügung. Daraus resultiert eine geringere 5-FU-Freisetzung (Abb. 3.16 b).

HPLC-Messungen nach der Freisetzung haben gezeigt, dass sowohl aus dem Polymer, welches mit UV-Absorber funktionalisiert wurde, als auch das ohne Absorber nur 5-FU freigesetzt wurde (Abb. 3.17).

Mit diesem Experiment konnte gezeigt werden, dass das System trotz Anwesenheit eines UV-Absorbers 5-FU freisetzen und diese photoinduzierte Reaktion wiederholt werden kann.





**Abbildung 3.17:** a) HPLC-Chromatogramm der Wasserphase, nach der SPA-induzierten Freisetzung. b) DAD-Signal des diffundierten 5-FUs im Vergleich zur Referenz.

### 3.8 Untersuchung der Freisetzungskinetik aus funktionalem Polymer

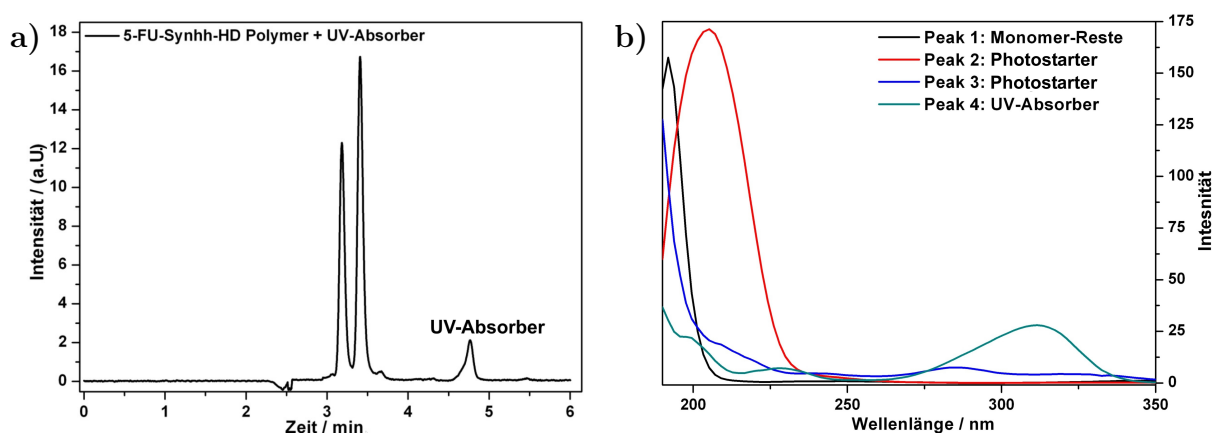
Bevor die Freisetzung aus den Polymeren bestimmt werden konnte, wurde das Material in Wasser zu einem Hydrogel gequollen, damit die Reste des Photostarters aus dem Polymer diffundieren konnten, um Störungen bei den Messungen der Freisetzung zu minimieren.

Die Wasserphase wurde in wöchentlichen Abständen gewechselt und über HPLC gemessen. Dabei konnten nur Monomer-Reste, Photostarter und überschüssiger UV-Absorber detektiert werden (Abb. 3.18 und 3.19).

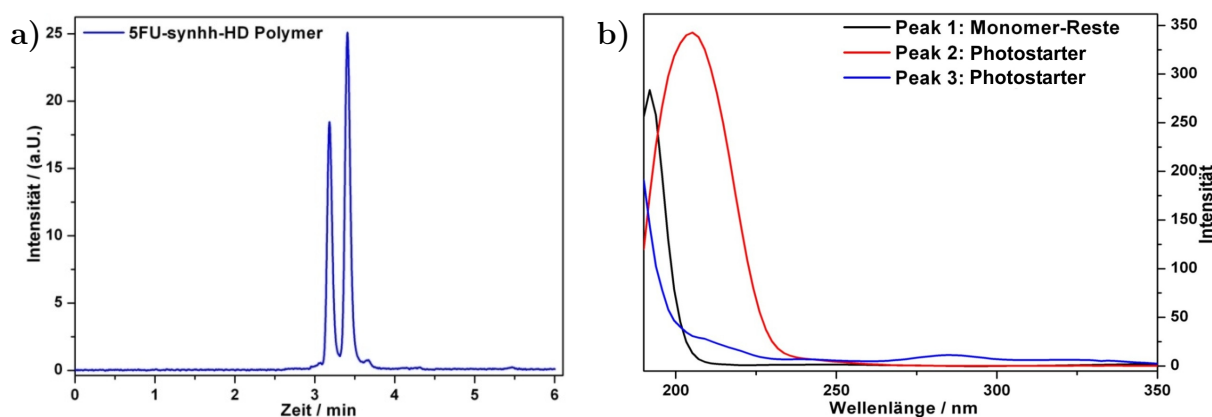
Wie in Kapitel 4.2.8 beschrieben wurde das Polymermaterial einem Autoklavierprozess unterzogen. Zum einen diente dies der Sterilisation der Materialien und zum anderen konnte so die Druck- und Thermostabilität der copolymerisierten Drug-Linker-Systeme überprüft werden.

Nach dem Sterilisationsprozess wurde die Wasserphase mit Hilfe der HPLC überprüft, ob eventuell durch thermische Zersetzungsreaktionen Dimer oder Wirkstoff (5-FU) freigesetzt wurden.

Wie in Abb. 3.18 dargestellt, wurde nur eine größere Menge Photostarter freigesetzt. Wurde der Polymermischung UV-Absorber hinzugegeben, konnte dieser auch in der Quelllösung detektiert werden (Abb. 3.19).



**Abbildung 3.18:** Quelllösung von 5-FU-syn-hh-HD-Polymer mit UV-Absorber. a) HPLC-Chromatogramm der Wasserphase nach dem Autoklavierprozess ACN/H<sub>2</sub>O (75/25). b) DAD-Signale der einzelnen Peaks.

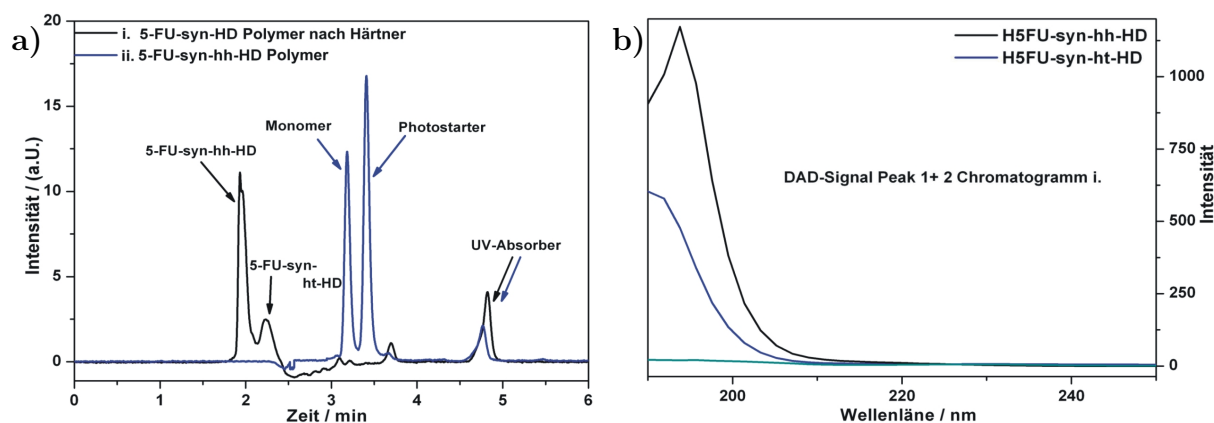


**Abbildung 3.19:** 5-FU-syn-hh-HD Polymer ohne UV-Absorber. a) HPLC-Chromatogramm der Wasserphase nach dem Autoklavierprozess in ACN/H<sub>2</sub>O (75/25), als Elutionsgemisch. b) DAD-Signale der einzelnen Peaks.

Aufgrund der geringen Freisetzung konnte keine massenspektrometrische Untersuchung mit der Probe durchgeführt werden.

Anhand der bekannten Retentionszeiten unter Verwendung der gleichen Laufmittel (ACN/H<sub>2</sub>O; 75/25) konnte bei diesen Peaks 5-FU, H5FU und 5-FU-syn-hh-HD ausgeschlossen werden (2,04 min, 3,28 min, 3,83 min).

Anhand des Vergleichs der Wasserphase mit zwei Dummy-Polymerplatten, die mit und ohne UV-Absorber copolymerisiert waren, waren diese Peaks ursächlich von Monomer-resten, Photostarter und UV-Absorber, welcher bei 4,78 min eindeutig identifiziert werden konnte.



**Abbildung 3.20:** a) HPLC-Chromatogramm der Wasserphase nach dem Sterilisationsprozess in ACN/H<sub>2</sub>O (75/25), als Elutionsgemisch. b) DAD-Signale der 5-FU-Homodimere aus dem nicht copolymerisierten polymeren System.

Der Sterilisationstest wurde auch mit dem nach der Methode von Härtner et al. [31], synthetisierten Polymer durchgeführt, in diesem 5-FU-syn-hh-Homodimer lediglich einpolymerisiert wurde. D.h., dass Homodimer wurde nicht an das Polymerrückgrat copolymerisiert, sondern aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit, man davon ausging, dass 5-FU-HD nicht aus dem Polymer diffundiert.

Der Sterilisationstest hat gezeigt, dass in der wässrigen Phase (Quelllösung des Polymers), 5-FU-Homodimere detektiert werden konnten (Abb. 3.20). Aufgrund dessen wurde das polymere System auf der Grundlage entwickelt, dass ein 5-FU-Molekül als Linker für das Polymerrückgrat verwendet wird.

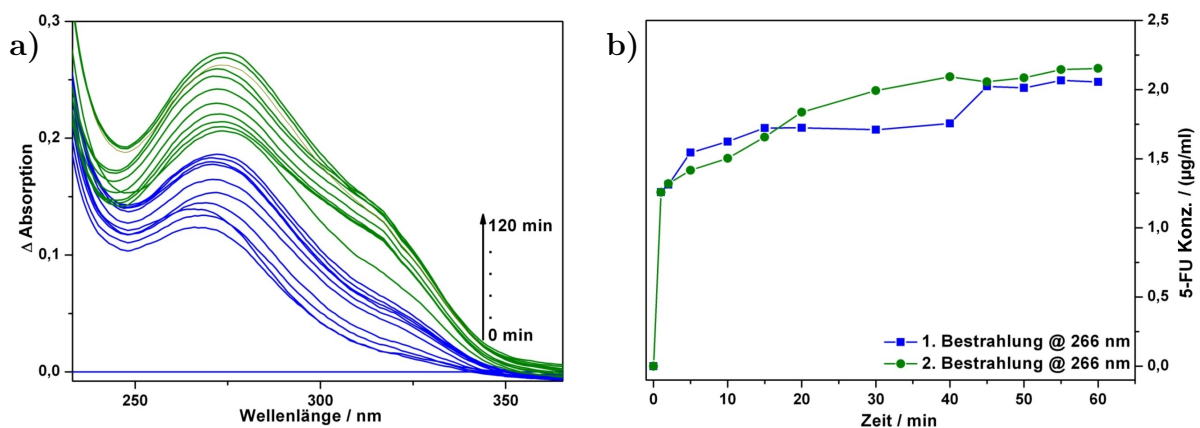
Um die Freisetzungskinetik des Wirkstoffs aus dem autoklavierten Polymer zu untersuchen, wurden Ein-Photonen und Zwei-Photonen-Experimente durchgeführt.

Für die Ein-Photonen-Experimente wurde das autoklavierte Material mit einer Leuchtdiode (LED), deren Emissionsmaximum bei 266 nm liegt, 1 min bestrahlt. Der Strahldurchmesser der LED lag bei 3,6 mm. In einer 4-Fensterglasküvette wurde ein, in Wasser gequollenes Polymerstück fixiert. Dies hatte die Abmaße von 1,0 cm × 1,0 cm × 0,25 cm, im ungequollenen Zustand. Das entsprach einer Masse von 12,8 mg, das wiederum mit 320 µg 5-FU beladen war.

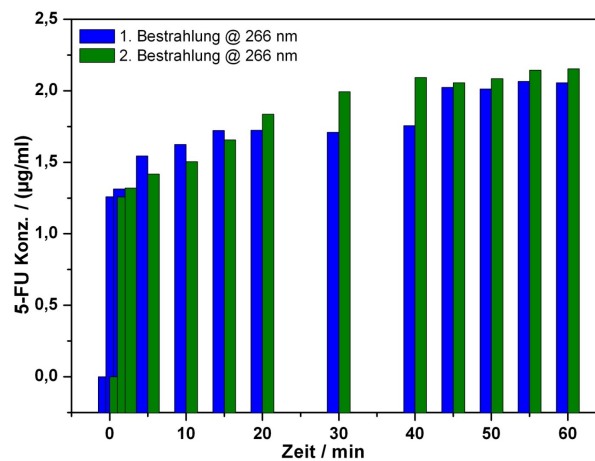
Durch den geringen Durchmesser der Diode wurde nur ein kleiner Teil des Polymers bestrahlt. Es ist zu vermuten, dass ca. 10 % des Polymers der vollen Leistung der Diode ausgesetzt wurden. Das bedeutet, dass theoretisch 32 µg 5-FU durch die Bestrahlung freigesetzt werden können.

Dabei wurden zwei Proben getestet: Polymer ohne UV-Absorber und Polymer, welches mit 1 % UV-Absorber (BHP-EA) versetzt wurde.

Die Ein-Photonenabsorptions-Experimente dienen hierbei zur ersten Untersuchung der SPA-Freisetzungskinetik und der Überprüfungen der Funktionalität. Da UV-Strahlung die Cornea kaum passieren kann, sind Zwei-Photonen-Experimente für die weitere Anwendung der funktionalisierten Polymere von Interesse.



**Abbildung 3.21:** Diffusion von 5-FU nach Ein-Photonen-Absorption, aus 5-FU-syn-hh-HD Polymer ohne UV-Absorber. a) Differenzspektren, aufgenommen in einem bestimmten Zeitintervall. b) Bestimmung der freigesetzten Konzentration an 5-FU.



**Abbildung 3.22:** Darstellung der freigesetzten Konzentration von 5-FU.

Wie in Abb. 3.21 verdeutlicht zeigt sich eine diffusionsgesteuerte Freisetzung, wobei in den ersten Minuten wie erwartet eine hohe Initialdosis an 5-FU diffundiert und sich gegen Ende der jeweiligen Messung eine Plateauphase/Sättigung ausbildet.

Aus den einzelnen Bestrahlungseinheiten konnte die Diffusionsgeschwindigkeit ( $v_{Diff}$ ) von 5-FU ermittelt werden.

Dabei ergab die berechnete Diffusionsgeschwindigkeit für die erste Bestrahlung  $v_{Diff} = 0,15 \mu\text{g}/\text{min}$ , die zweite  $v_{Diff} = 0,2 \mu\text{g}/\text{min}$ .

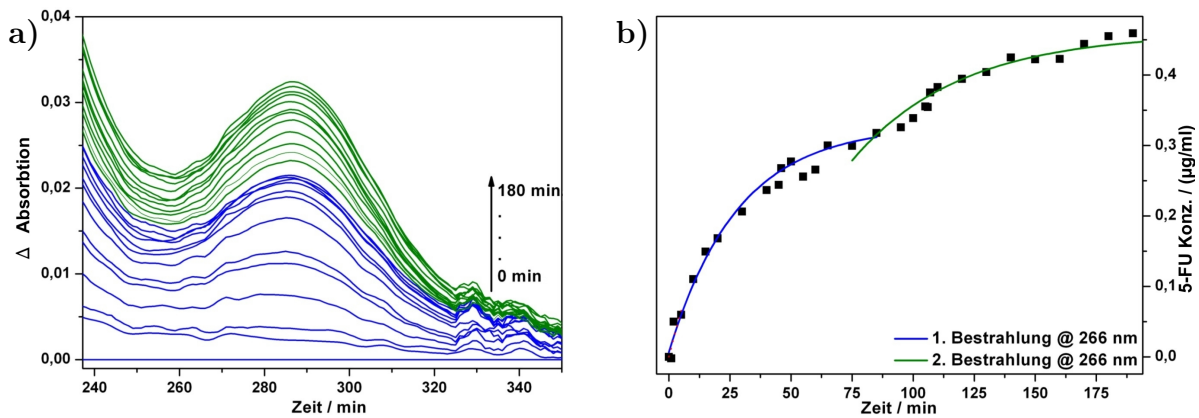
Die Unterschiede der Diffusionsgeschwindigkeiten kann daher rühren, dass bei der darauffolgenden Messung noch von dem vorangegangenen Freisetzungs-Experiment 5-FU aus dem Polymer zusätzlich zu dem neu gespaltenen 5-FU diffundiert, was zu einer erhöhten 5-FU Konzentration im Vergleich zur vorangegangenen Freisetzung führte.

Wie in Abb. 3.22 deutlich wird, diffundieren bei den Freisetzungsprozessen, jeweils ähnliche Konzentrationen an 5-FU aus dem Polymer, welches sich am Ende hin der Plateauphase annähert. Mit dieser Abbildung wird verdeutlicht, dass bei den jeweiligen Bestrahlungseinheiten, ähnliche Konzentrationen an Wirkstoff freigesetzt wird.

Insgesamt wurden  $4,4 \mu\text{g}$  freigesetzt was  $13,8 \%$  der theoretisch enthaltenen Wirkstoffkonzentration entspricht. Dies ist achtmal höher als die bekannte  $\text{IC}_{50}$  Konzentration von 5-FU für Linsenepithelzellen von Hasen, diese beträgt  $0,58 \mu\text{g}/\text{mL}$  <sup>[165]</sup>. Diese Konzentration ist auch höher, als die bekannte niedrigste Konzentration an 5-FU, die nachweislich eine antiproliferative Wirksamkeit an humanen kornealen Epithelzellen (HCECs) zeigte<sup>[140]</sup>.

Aufgrund der Tatsache, dass bisher noch nicht die exakte effektive Dosis, die zur Behandlung von PCO benötigt wird bestimmt wurde, kann resümiert werden, dass die Initialdosis ausreicht, um das Wachstum der Linsenepithelzellen zu hemmen.

Da die Aktivierung des Systems und somit die Freisetzung mehrfach möglich ist, würde das System zur Anwendung kommen und nach der ersten Anwendung sich in einem bestimmten Zeitabschnitt eine erhöhte Proliferation von LECs zur Eintrübung der Linsen einstellen, dann könnte eine weitere Bestrahlung dieses wieder hemmen.



**Abbildung 3.23:** Diffusion von 5-FU nach Ein-Photonen-Absorption, aus 5-FU-syn-hh-HD Polymer mit BHP-EA als UV-Absorber. a) Differenzspektrum aufgenommen in einem bestimmten Zeitintervall, nach jeweils 1 min Bestrahlung. b) Bestimmung der freigesetzten Konzentration an 5-FU.

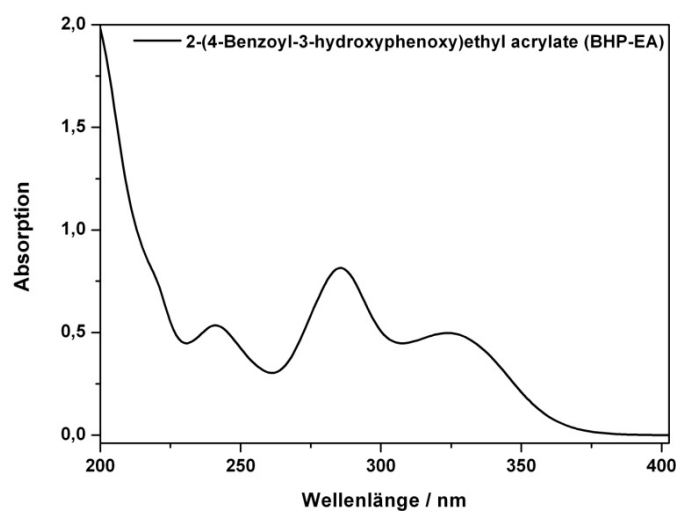
SPA-Experimente an wirkstoffbeladenen Polymer, welches 1 % UV-Absorber (BHP-EA) enthielt, dienten zur Überprüfung der Funktionalität des Polymers nach dem Autoklavierprozess. Hierbei wurde das Polymer für jede Bestrahlungseinheit jeweils 5 Minuten bei 266 nm bestrahlt (Abb. 3.23).

Das Polymer war mit der gleichen Menge an 5-FU beladen (ca. 2 %). Das Experiment wurde analog zu dem Polymer-Material ohne UV-Absorber durchgeführt.

Insgesamt wurden aus dem Polymer 0,46  $\mu\text{g/mL}$  5-FU freigesetzt. Das entspricht circa 1,53 % 5-FU, was über den Linker an das Polymer copolymerisiert wurde.

Dabei ergab die berechnete Diffusionsgeschwindigkeit für die erste Bestrahlung  $v_{Diff} = 0,013 \mu\text{g/min}$  und die zweite 0,0028  $\mu\text{g/min}$ .

Dadurch, dass das Polymermaterial 1 % UV-Absorber enthielt, der im Bereich von 266 nm selbst absorbiert, wird verhältnismäßig wenig 5-FU aus dem Polymer freigesetzt, da ein bestimmter Anteil der Photonen durch den UV-Absorber abgefangen werden, wie das UV/Vis-Spektrum des UV-Absorber in Abb. 3.24 zeigt.



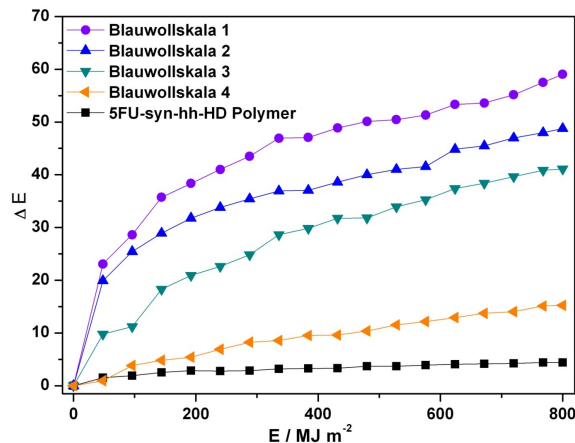
**Abbildung 3.24:** UV/Vis-Spektrum des im Polymer enthalten UV-Absorbers.

Durch dieses Experiment konnten folgende Resultate erzielt werden:

- i Eine Ein-Photonen induzierte [2+2]-Cycloreversion ist möglich.
- ii Der UV-Absorber BHP-EA fängt einen Großteil der UV-Strahlung ab.
- iii An diesem System kann eine Mehrfachfreisetzung durchgeführt werden.

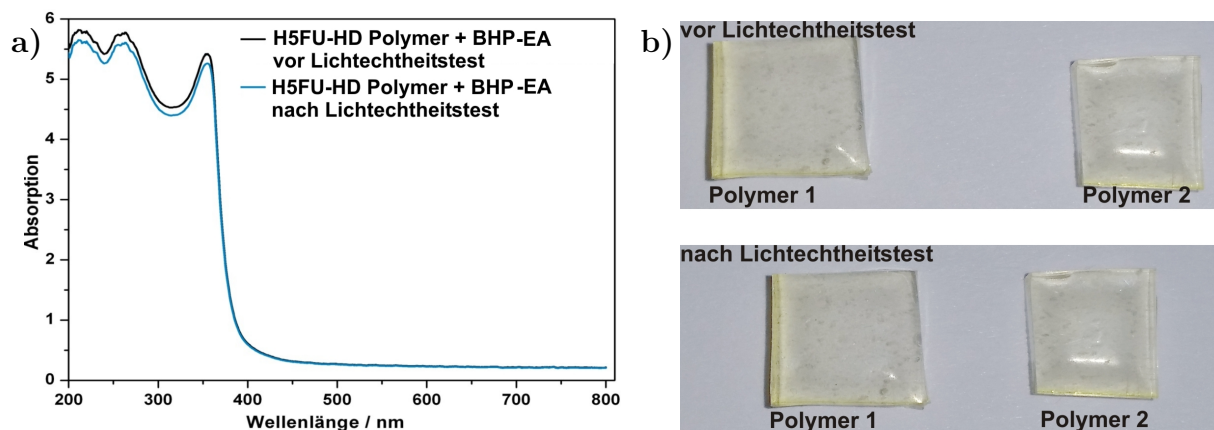
### 3.9 Lichtechtheitstest

Da das implantierte Linsenmaterial durchaus Strahlung im Wellenlängenbereich von 300-400 nm ausgesetzt ist (die Cornea lässt 3 % durch DIN ISO 11975-5), muss ferner getestet werden, inwieweit der UV-Absorber diese Strahlung abfängt.



**Abbildung 3.25:** Lichtechtheitstest. Darstellung der  $\Delta E$  Werte in Abhängigkeit zur eingestrahnten Energiedosis.

Getestet wird hierbei wie in Kapitel 4.4.4 beschrieben zunächst die Farbechtheit des Polymers (Abb. 3.25), d.h. ob sich durch Bestrahlung des Materials in einer bestimmten Zeit die Farbe ändert, was auf Abbaureaktionen innerhalb des Polymers hinweisen könnte.



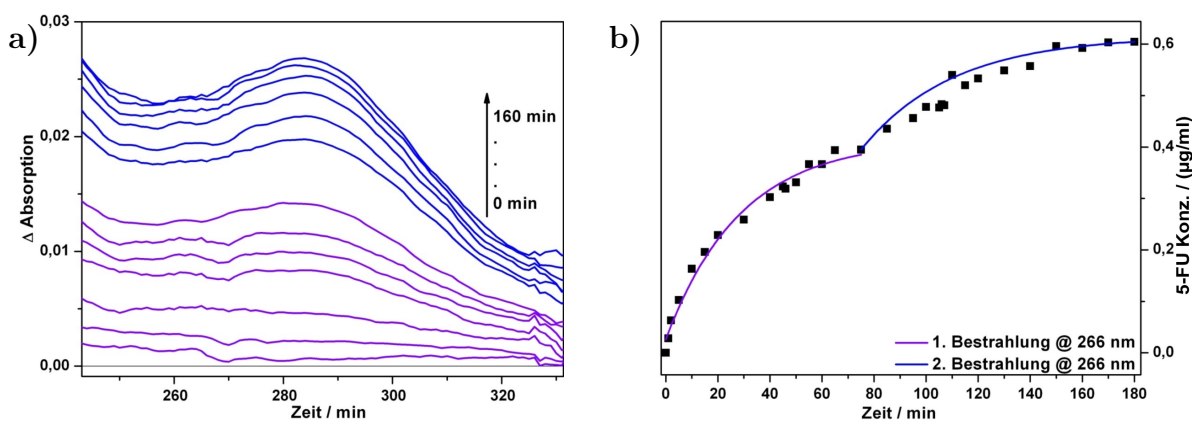
**Abbildung 3.26:** a) UV/Vis-Spektrum der Polymerplatte, die den UV-Absorber BHP-EA enthält. b) Polymer vor und nach der Bestrahlung.



Zum anderen wurde nach dem Lichtechtheitstest die Funktionalität des Materials geprüft, ob durch Ein-Photonen-Absorption noch 5-FU freigesetzt werden kann.

Während sich andere Polymere, die auf Methacrylat-Basis hergestellt wurden und Coumarin-Komponenten enthalten, selbst nach kurzer Bestrahlungsdauer dunkel verfärben [166], bleibt das 5-FU-HD-Polymer, welches UV-Absorber enthielt, transparent (Abb. 3.26).

Um die Lichtechtheit mit einer Referenz zu vergleichen, wurden vier Teststreifen der Blauwollskala (1-4 siehe, Kapitel 4.4.4 Abb. 4.2) gleichzeitig bestrahlt, mit einem Gardener Analysator die Farbnuance gemessen und mit den Werten des Polymers verglichen. Dabei wurde ein  $\Delta E$ -Wert von 4 erhalten, der einer Lichtechtheit der Blauwollskala von 7 entspricht (DIN 54004 Xenonlicht). Dies entspricht einer sehr guten Lichtechtheit.



**Abbildung 3.27:** Ein-Photonen-Absorptions-Experiment mit 5-FU-syn-hh-HD Polymer. a) UV-Differenzspektren. b) Freigesetzte Konzentration von 5-FU in Abhängigkeit zur Diffusionszeit.

Das SPA-Experiment an dem 5-FU-syn-hh-HD Polymer diente zur Überprüfung, inwieweit nach einer realen Lichtstimulation das Homodimer immer noch [2+2]-Cycloreversions-Reaktionen ausführen und das Polymer dadurch 5-FU freisetzen kann. Dafür wurden zwei Bestrahlungseinheiten durchgeführt, mit jeweils 5 Minuten und nach bestimmten Zeitintervallen UV/Vis-Spektren aufgenommen (Abb. 3.27).

Insgesamt wurden aus dem Polymer 0,6  $\mu\text{g/ml}$  5-FU freigesetzt. Das entspricht ungefähr 1,84 % 5-FU.

Dabei ergab die berechnete Diffusionsgeschwindigkeit für die erste Bestrahlung  $v_{Diff} = 0,013 \mu\text{g/min}$  und für die zweite Bestrahlung 0,010  $\mu\text{g/min}$ .

Dieser Versuch zeigte, dass zum einen das Polymer lichtecht ist und nicht durch Abbau-

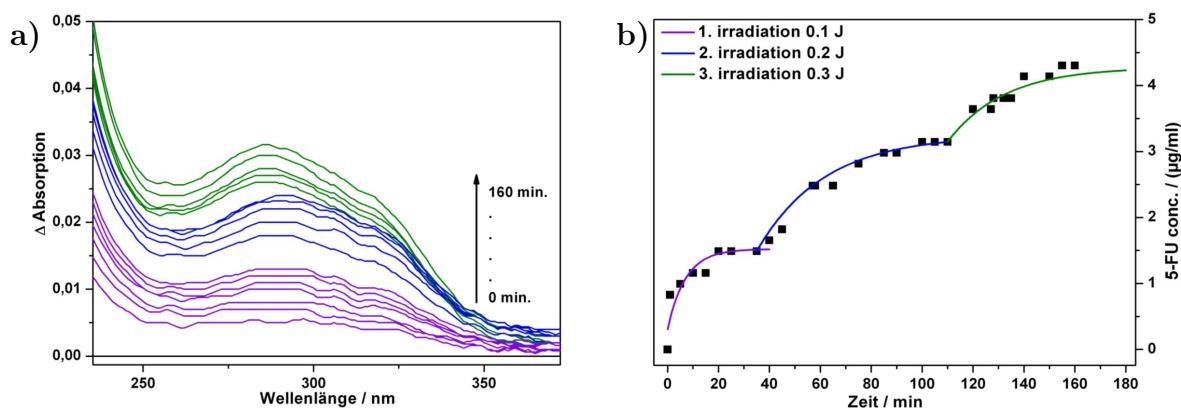
oder sonstige Reaktionen innerhalb des Polymers eine Verfärbung eintritt und zum anderen, dass es nach dem Lichtechtheitstest funktionsfähig und eine mehrmalige Freisetzung durch die entsprechende Bestrahlung möglich war.

### 3.10 Zwei-Photonen (TPA) gesteuerte Freisetzung aus Polymermaterial

Entsprechend der Ein-Photonen induzierten Freisetzung wurde auch die Zwei-Photonen induzierte Wirkstofffreisetzung getestet.

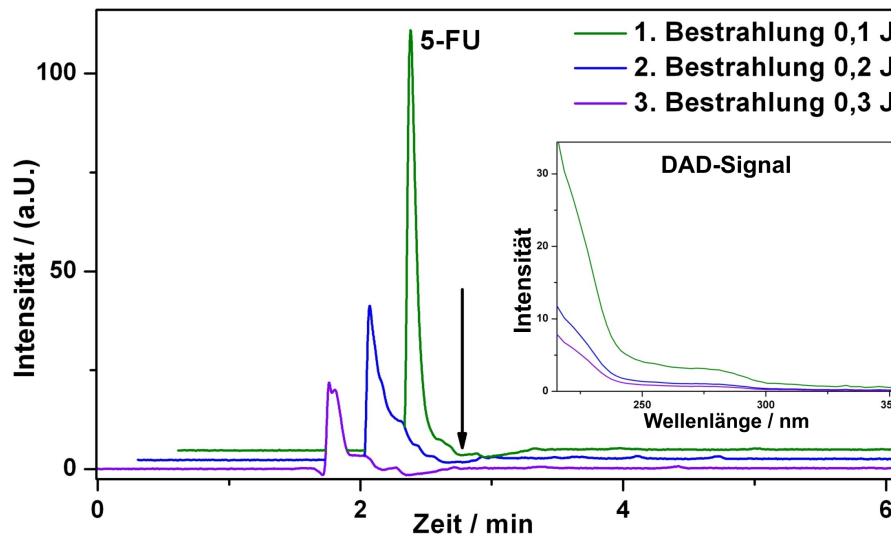
Für dieses Experiment wurde eine in Wasser gequollene Polymer-Ronde mit den Maßen (1,0 cm × 0,6 cm × 0,25 cm) in einer Polymer-Halterung wie in Kapitel 1.5 dargestellt fixiert und jeweils mit 10.000 Pulsen der Energie von 100 mJ und einer Pulsfrequenz von 20 Hz bei 532 nm bestrahlt.

Die Bestrahlung wurde dreimal an derselben Stelle des Polymers durchgeführt. Die Diffusion des freigesetzten 5-FU wurde durch UV/Vis-Messung der 0,9 % igen NaCl-Lösung detektiert. Der Beginn der Freisetzung wurde bei 8,4 min gemessen, weil die Bestrahlungsdauer mit dem Laser 8,4 min betrug. Da das Polymer zu einem UV/Vis-Gerät transportiert werden musste, konnte die zweite Freisetzung erst ab 9,8 min gemessen werden.



**Abbildung 3.28:** TPA-Freisetzung an 5-FU-syn-hh-HD Polymer + UV-Absorber. a) UV-Differenzspektren der Wasserphase nach jeweiliger Bestrahlung in bestimmten Zeitintervallen. b) Konzentration der diffundierten 5-FU-Moleküle, gemessen in Abhängigkeit der Zeit.

Um zu prüfen, inwieweit tatsächlich 5-FU freigesetzt wurde, wurde die wässrige Phase mit der HPLC nach den einzelnen Bestrahlungseinheiten analysiert (Abb. 3.29).



**Abbildung 3.29:** HPLC Messung der 0,9 % NaCl-Lösung nach Bestrahlung des Polymers, 75/25 ACN/H, 75/25 ACN/H<sub>2</sub>O.

Wie in Abb. 3.28 dargestellt, zeigte sich zunächst ein starker Anstieg des freigesetzten 5-FUs unmittelbar nach der Bestrahlungsphase, die nach einer bestimmten Zeit zu einer Plateauphase abflacht.

Nach der ersten Bestrahlungsphase wurden 1,34 µg/mL 5-FU, in der zweiten 1,5 µg/mL und in der dritten 1,41 µg/mL freigesetzt. Das Polymer enthielt 320 µg Wirkstoff, von dem insgesamt 1,32 % freigesetzt wurden.

Bei einer IC<sub>50</sub> Konzentration von 0,58 µg/mL, wurde somit bei jeder Bestrahlungseinheit diese Dosis um das ca. siebenfache überschritten.

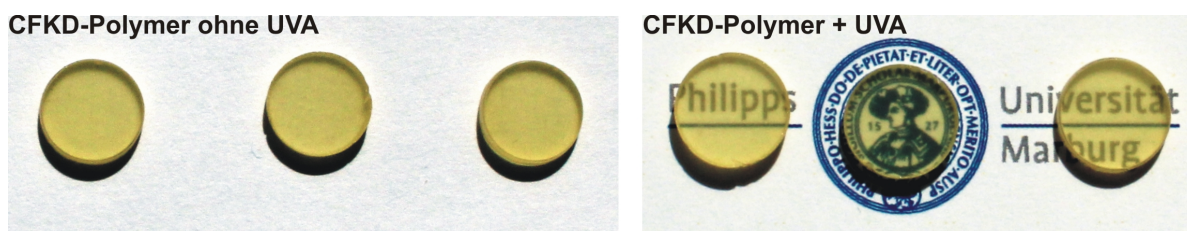
Es kann davon ausgegangen werden, dass eine kürzere Bestrahlungsdauer wahrscheinlich ausreicht, um das Wachstum der LECs zu hindern oder die Apoptose zu induzieren.

Eine weitere Methode um den diffundierten Wirkstoff zu analysieren, ist die HPLC-Analyse der wässrigen Phase. Aufgrund des geringen Anteils an 5-FU, der freigesetzt wird, stößt die HPLC an ihre Nachweisgrenze. Deswegen wurde eine weitere Polymer-Ronde wie zuvor beschrieben bestrahlt, nach 40 min Inkubation die wässrige Phase entnommen und eine HPLC-Messung durchgeführt. Dieser Versuch wurde zwei mal wiederholt. Es konnte anhand dieses Versuchs festgestellt werden, dass nur 5-FU aus dem Polymermaterial freigesetzt wurde und die TPA-induzierte Spaltungsreaktion somit mehrmals durchgeführt werden kann (Abb. 3.29).

Für die weitere Anwendung bedeutet dies, dass das System für TPA-Experimente geeignet ist und dabei eine ausreichende Menge an 5-FU dabei freigesetzt wird, um die Eintrübung der IOL durch LECs zu verhindern.

### 3.11 Chalkon-Heptanoyl-5-Fluoruracil (CFKD)

Die Verwendung des Chalkons als photochemischer Linker wurde bereits von Frau Dr. Liese beschrieben <sup>[23]</sup>. Basierend auf diesen Ergebnissen und den hohen Zwei-Photonen-Quantenausbeuten wurde diese Linker-Struktur gewählt, um die Synthesen zu modifizieren und ein neuartiges Polymer zu entwickeln, welches mit einem nach DIN ISO Norm konformen UV-Absorber copolymerisiert wird.

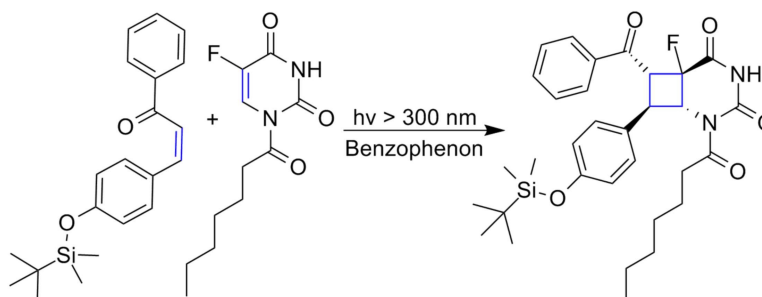


**Abbildung 3.30:** Mit CFKD funktionalisiertes Polymer, mit und ohne UV-Absorber.

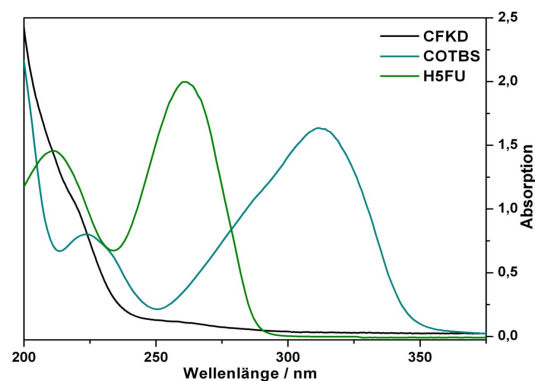
#### 3.11.1 Bestimmung der photochemische Eigenschaften von CFKD

Wie in Kapitel 3.3 beschrieben, ändert sich bedingt durch die [2+2]-Cycloadditionsreaktion das Absorptionsmaximum des daraus resultierenden Dimers. Wie in Abb. 3.32 b) dargestellt weist COTBS (4-tert-Butyldimethylsilyloxychalkon) zwei Absorptionsmaxima (238 nm, 313 nm) auf (Abb. 3.32).

Durch die [2+2]-Cycloaddition bildet sich eine Cyclobutanring-Struktur zwischen dem konjugierten System von H5FU und COTBS aus.



**Abbildung 3.31:** Schematische Darstellung der [2+2]-Cycloadditionsreaktion.



**Abbildung 3.32:** UV/Vis-Spektren der einzelnen Komponenten und des entstehenden CFKDs.

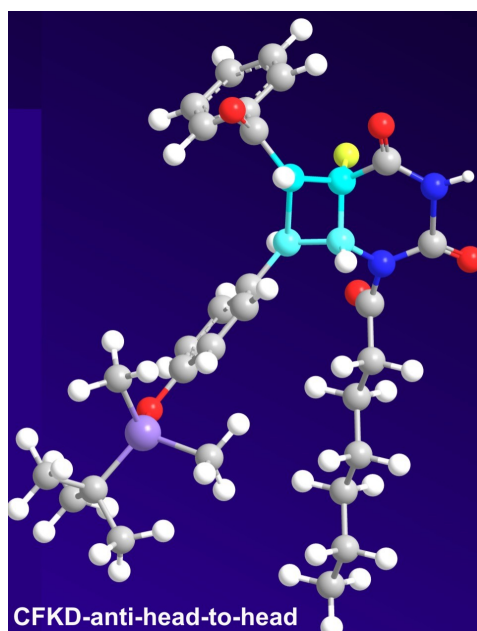
Auch bei diesen Molekülen wurde der Extinktionskoeffizient wie in Kapitel 4.2.4 beschrieben bei 266 nm bestimmt.

Mono-und Dimer-Moleküle	$\epsilon_{266} \left( \frac{L}{mol \times cm} \right)$
H5FU	$6.279,07 \pm 43,04$
COTBS	$9.122,27 \pm 37,05$
CKD	$1.500,87 \pm 33,06$

**Tabelle 3.4:** Extinktionskoeffizienten von H5FU, COTBS und CKD bei 266 nm.

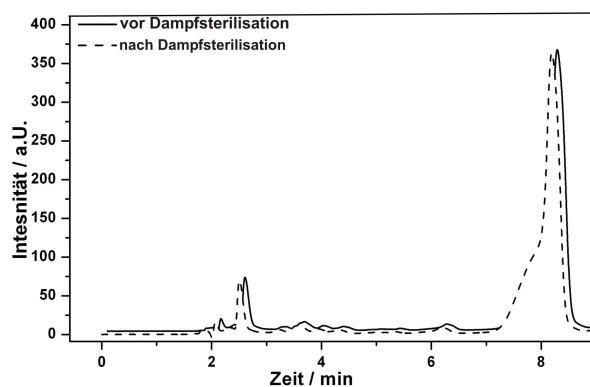
Aufgrund der hohen Absorption bei 266 nm kann eine hohe Ein-Photonenquantenausbeute vermutet werden.

Die Ergebnisse werden im folgenden Kapitel 3.11.2 erläutert. Die Konfiguration des Kreuzdimers konnte wie in Kapitel 4.2.1 beschrieben über 2D-NMR Spektroskopie als anti-head-to-head identifiziert werden (Abb. 3.33).



**Abbildung 3.33:** 3-D Modell der absoluten Konfiguration des Chalkon-H5FU-Kreuzdimers (türkis=Cyclobutanring, grau=Kohlenstoff, rot=Sauerstoff, weiß=Wasserstoff, gelb=Fluor, blau=Stickstoff, violett=Silizium).

Für diese Verbindung wurde gleichfalls ein Thermostabilitätstest nach Vorschrift (Kapitel 4.2.8) durchgeführt und bei 121°C dampfsterilisiert.

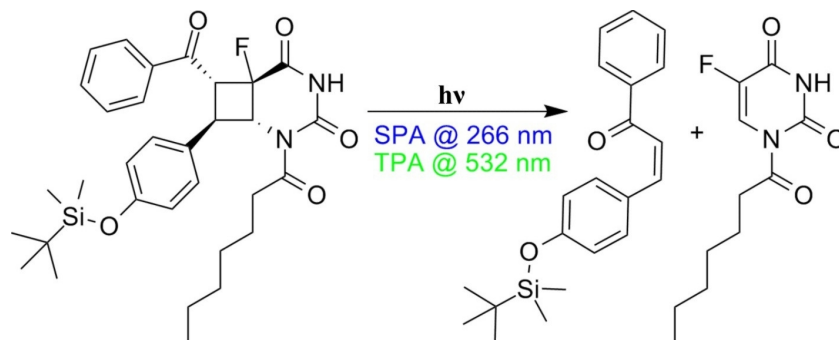


**Abbildung 3.34:** HPLC-Chromatogramm von CFKD vor und nach dem Thermostabilitätstest. Isokratisches Elutionsgemisch ACN/H<sub>2</sub>O (75/25).

Es wurde vor und nach der Dampfsterilisation eine HPLC-Messung durchgeführt. Beim Vergleich beider Chromatogramme (Abb. 3.34) sind keine zusätzlichen Peaks feststellbar, außer CFKD bei 8,35 min und eine Verunreinigung bei 2,5 min, die durch Reinigung mittels präparativer HPLC nicht isoliert werden konnte.

### 3.11.2 SPA-und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der CFKD

Wie in Kapitel 1.5 und 4.4 erläutert wurden die SPA- und TPA-Experimente (Abb. 3.35) nach folgenden Anweisungen in Acetonitril durchgeführt.

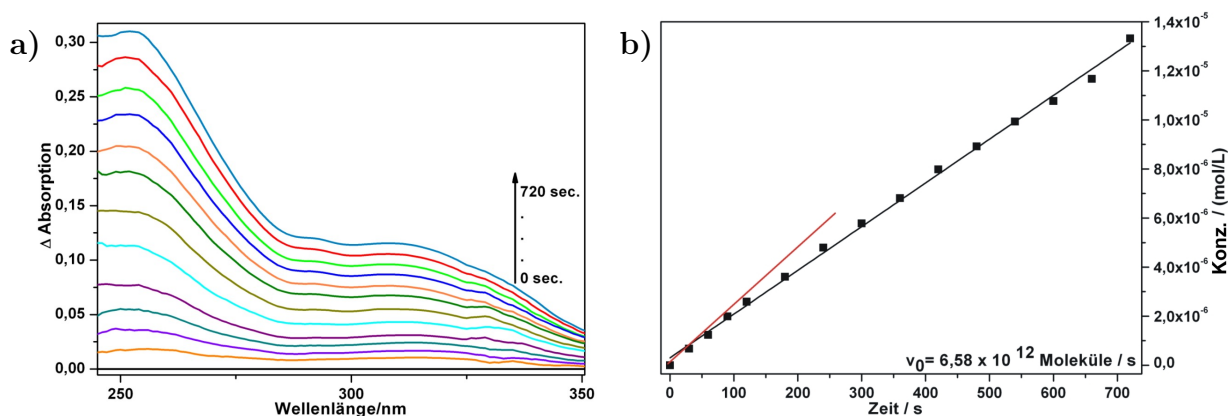


**Abbildung 3.35:** Schematische Darstellung der SPA-und TPA induzierten [2+2]-Cycloreversionsreaktionen.

Für die Bestimmung der Ein-Photonen-Quantenausbeute wurde eine Konzentration von CFKD von  $2,4 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  gewählt.

Zur Bestimmung der Spaltungsgeschwindigkeit  $v_0$  wurde die Absorption bei 313 nm gewählt. Dies entspricht dem Absorptionsmaximum von COTBS, um die genaue freigesetzte Konzentration ohne Überlagerung von H5FU zu gewährleisten.

Zur Konzentrationsbestimmung wurde der Extinktionskoeffizient von COTBS in Acetonitril bei 313 nm bestimmt, dieser beträgt  $26.717,11 \frac{\text{L}}{\text{mol} \times \text{cm}}$ .

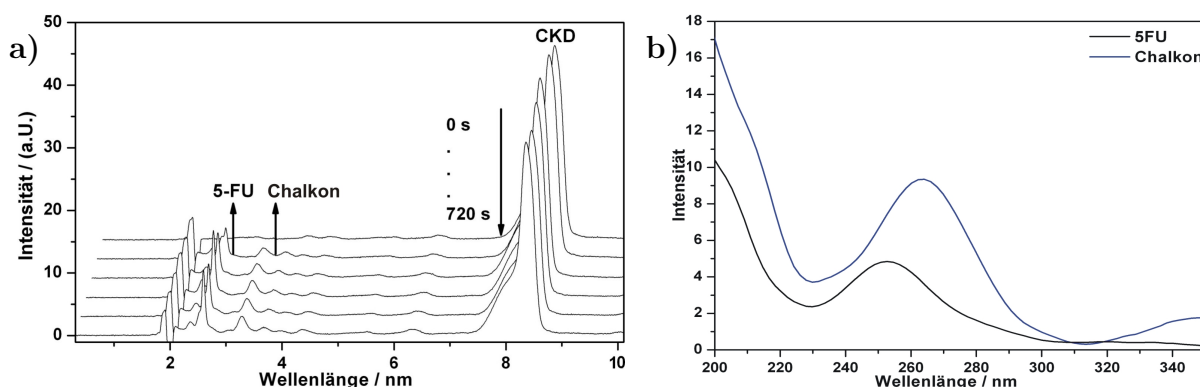


**Abbildung 3.36:** a) UV-Differenzspektren von CFKD in bestimmten Zeitintervallen aufgenommen. b) Zunehmende Monomerkonzentration in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit.



Wie aus Abb. 3.36 b) zu entnehmen, konnte für das Ein-Photonen-Absorptionsexperiment anhand von CFKD eine Anfangsgeschwindigkeit von  $6,58 \times 10^{12}$  Moleküle/s bestimmt werden.

Die Quantenausbeute ist mit  $\Phi_{266nm}^{SPA} = 0,004$  deutlich geringer als die der Isomeren H5FU-syn-head-to-head und anti-head-to-head (vgl. Kapitel 3.4).



**Abbildung 3.37:** a) Isokratische HPLC-Messungen der [2+2]-Cycloadditionsreversions-Reaktion bei 266 nm, mit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) als Elutionsmittel b) DAD-Signal der freigesetzten Komponenten.

Zusätzlich zu den photometrischen Messungen wurden HPLC-Messungen durchgeführt, um sicherzustellen, dass das Kreuzdimer nur in H5FU bzw. 5-FU und COTBS gespalten wurde und nicht eventuelle Abbauprodukte bei der Bestrahlung bei 266 nm entstanden sind (Abb. 3.37).

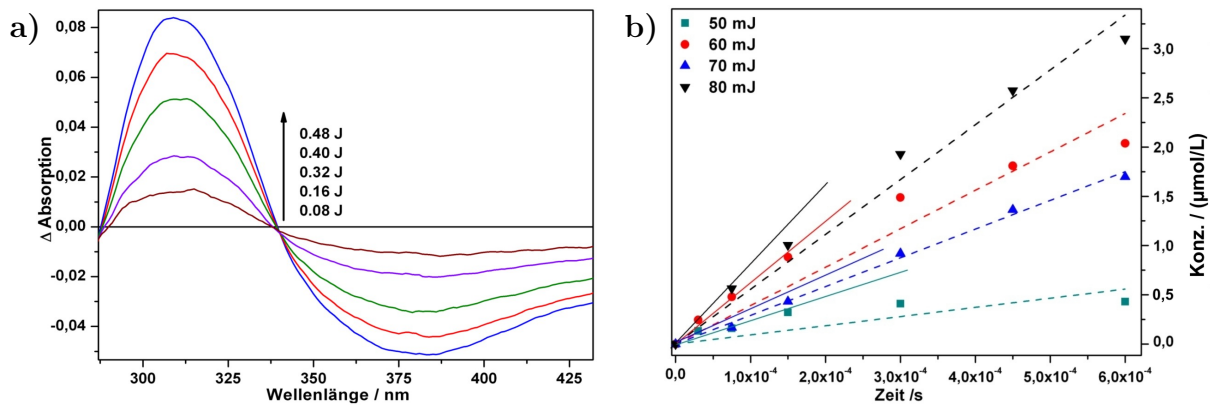
Wie aus der Abb. 3.37 zu entnehmen, entsteht nur 5-FU (2,3 min) und 4-Hydroxychalkon (3,3 min).

Die jeweiligen Schutzgruppen wurden wahrscheinlich durch die im Elutionslösungsmittel enthaltene Säure hydrolysiert.

Die TPA-Experimente wurden für die folgenden vier Energien: 50 mJ, 60 mJ, 70 mJ und 80 mJ, wie in Kapitel 1.5, 4.4.3 beschrieben durchgeführt (Abb. 3.38).

Für das Experiment wurde eine Konzentration des Kreuzdimers von  $1,98 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  in Acetontiril gewählt.

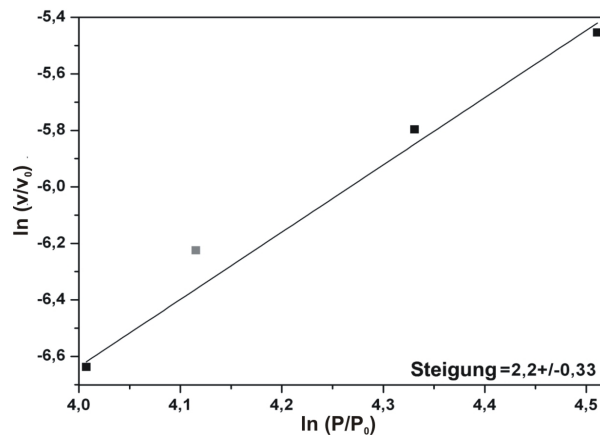




**Abbildung 3.38:** a) UV/Vis-Differenzspektren welche nach jeweiligem Bestrahlungsintervall aufgenommen wurde. b) Zunehmende Monomerkonzentration in Abhängigkeit zur Bestrahlungszeit.

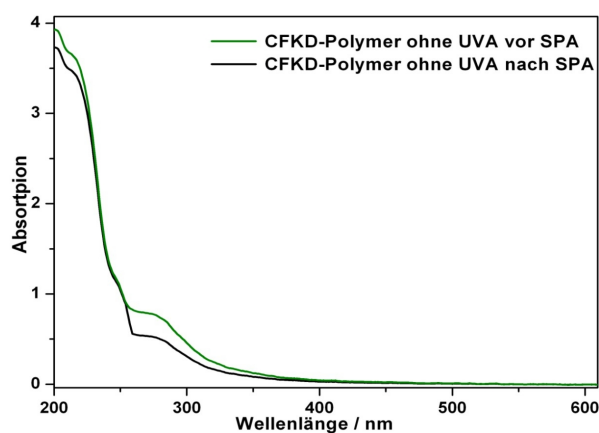
Der Goeppert-Meyer-Wert des CF-Kreuzdimers ist mit 7,27 GM, im Vergleich zu den bekannten Coumarin-Homodimere [19, 45, 123] und zu den bestimmten GM-Werten der H5FU-HD-Isomere, verhältnismäßig hoch. Dieses liegt unter anderem an der, wie in Kapitel 1.4 erläuterten, Bestimmung der Goeppert-Meyer Werte.

Für diese Berechnung wird der Ein-Photonen-Querschnitt mit einbezogen (siehe Gleichung 1.15). Da dieser sehr niedrig ist und bei 532 nm hohe Anfangsgeschwindigkeiten ermittelt werden konnten, fließt in die TPA-Reaktion eine gewisser Fehler mit ein [45].



**Abbildung 3.39:** Doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  gegen die Pulsleistungen.

Aus den ermittelten Werten konnte aus einer doppeltlogarithmischen Auftragung (Abb. 3.39) eine Steigung von  $2,20 \pm 0,33$  ermittelt werden, was dem theoretischen Wert von 2,0 nahekommt.



**Abbildung 3.40:** UV/Vis-Messung eines CFKD-Polymers vor und nach Ein-Photonen Absorption.

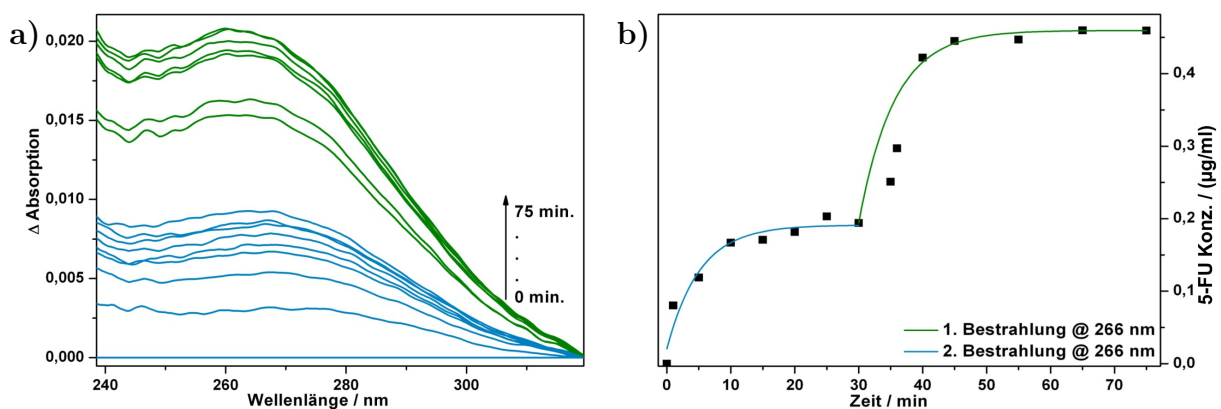
Wie in Abbildung 3.40 deutlich zu erkennen ist, ändert sich das UV/Vis-Spektrum nach der SPA-induzierten Freisetzung. Dies basiert auf der [2+2]-Cycloreversions bedingten Abspaltung des 5-FUs und der damit verbunden Rückbildung der konjugierten Doppelbindung des Chalkons.

### 3.11.3 Ein-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus funktionalisiertem CFKD-Polymer

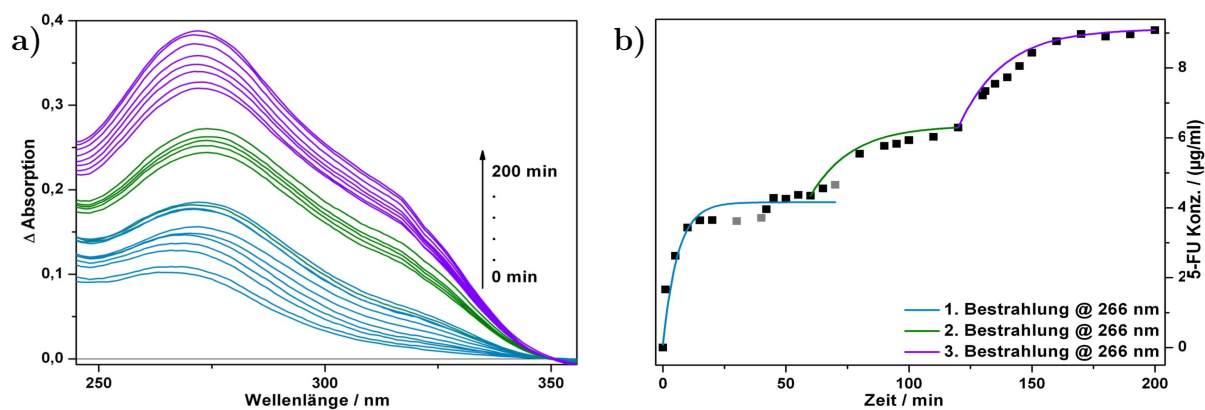
Wie in Kapitel 3.6 beschrieben wurden die Polymer-Ronden in Wasser eingelegt, um sie zum einen für die SPA- und TPA-Experimente zu hydratisieren und zum anderen überflüssigen Photostarter bzw. nicht polymerisierten UV-Absorber, der die Absorptionsspektren verfälschen könnte, zu entfernen.

Nach vier Wochen, in denen das Polymer in Wasser hydratisiert wurde, wurde es wie in Kapitel 4.2.8 beschrieben durch Autoklavieren sterilisiert. Das CFKD-Polymer war wie das H5FU-HD-Polymer mit 1 % UV-Absorber (2(4 benzoyl-3-hydroxy-phenoxy)ethylacrylat BHP-EA) beladen.

Eine Polymer-Ronde mit einem Durchmesser von 1 cm und einer Dicke von 0,25 cm (gequollener Zustand) wurde in der dafür angefertigten Halterung fixiert und in eine Küvette geschoben, die 2 mL 0,9 % ige Kochsalzlösung enthielt. Anschließend wurde das Polymer 5 min bestrahlt und unter ständigem Rühren in festen Zeitabständen ein UV-Spektrum aufgenommen (Abb. 3.41). Die erste Messung wurde vor der Bestrahlung durchgeführt (Nullprobe) und von den nachfolgenden Messwerten abgezogen (Abb. 3.41).



**Abbildung 3.41:** Ein-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus CFKD funktionalisiertem Polymer mit UV-Absorber a) Differenzspektren in Abhängigkeit zum jeweiligen Bestrahlungsintervall. b) Ermittelte 5-FU Konzentration, die freigesetzt wurde.



**Abbildung 3.42:** SPA-Experiment am CFKD-Polymer ohne UV-Absorber a) Differenzspektren in Abhängigkeit zum jeweiligen Bestrahlungsintervall. b) Ermittelte 5-FU Konzentration.

Um zu prüfen, inwieweit der UV-Absorber sich auf die Diffusionskinetik bzw. Freisetzung der abgespaltenen 5-FU auswirkt wurde Polymermaterial, welches keinen UV-Absorber enthielt, unter gleichen Umständen getestet (Abb. 3.42).

Für die Ein-Photonen-Absorption wurde das Polymer jeweils nur einmal für jeweils eine min bestrahlt und anschließend die UV/Vis-Spektren aufgenommen.

Die SPA-Experimente haben wie bei dem mit H5FU-Homodimer funktionalisierten Polymer gezeigt, dass das Polymer welches zusätzlich mit UV-Absorber funktionalisiert wurde, weniger 5-FU freisetzt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass der UV-Absorber in diesem Bereich der Exposition absorbiert.

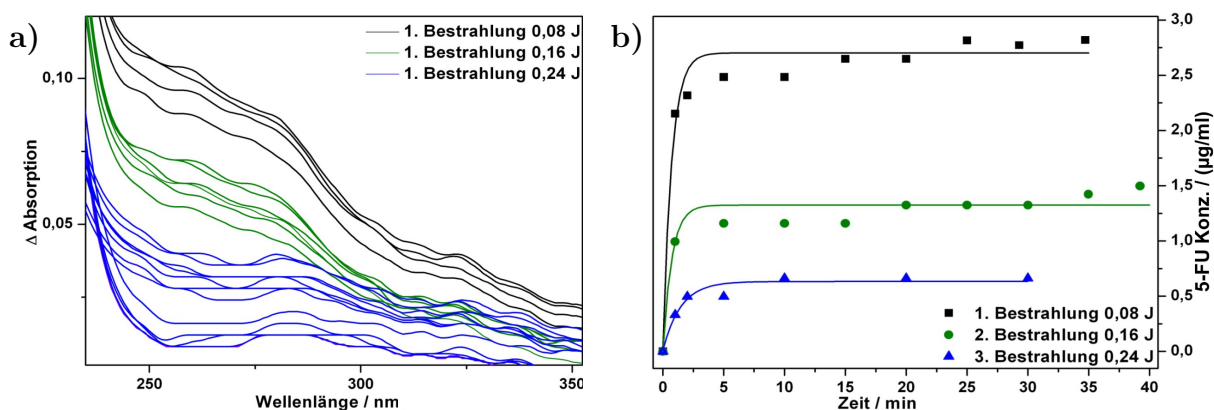
Die SPA-Experimente haben deutlich gezeigt, dass das System welches mit UV-Absorber zusätzlich funktionalisiert wurde mehrmals aktiviert werden kann und somit sich für die weitere zukunftsweisende Anwendung eignet.

### 3.11.4 Zwei-Photonen induzierte Freisetzung von 5-FU aus funktionalisiertem CFKD-Polymer

Entsprechend der Ein-Photonen induzierten Freisetzung wurde auch die Zwei-Photonen induzierte Wirkstofffreisetzung getestet.

Für dieses Experiment wurde eine, in Wasser gequollene, Polymer-Ronde mit den Maßen (1,0 cm × 0,6 cm × 0,25 cm) in einer Polymer-Halterung wie in Kapitel 1.5 dargestellt fixiert und jeweils mit 10.000 Pulsen der Energie von 80 mJ bei einer Pulsfrequenz von 20 Hz bei 532 nm bestrahlt.

Die Bestrahlung wurde dreimal an der gleichen Stelle des Polymers durchgeführt. Die Diffusion des freigesetzten 5-FU wurde durch UV/Vis-Messung detektiert.



**Abbildung 3.43:** Diffusion von 5-FU aus CFKD-Polymer mit UV-Absorber nach Zwei-Photonen-Absorption. a) Differenzspektren aufgenommen, in einem bestimmten Zeitintervall. b) Bestimmung der freigesetzten Konzentration an 5-FU als Funktion der Zeit.

Die Bestimmung der freigesetzten 5-FU-Konzentration wurde wie in Kapitel 1.5 durchgeführt. Insgesamt wurden nach den drei Bestrahlungs- und Messintervallen 4,98  $\mu\text{g}$  5-FU freigesetzt (Abb. 3.43 b).

Im Vergleich zu 5-FU-HD-syn-hh-Polymer nahm die Freisetzungsrate pro Bestrahlungsintervall um die Hälfte, beim dritten Intervall um ein weiteres Drittel ab (Abb. 3.44). Dies kann ein Indiz dafür sein, dass die Bestrahlungsintensität mit 80 mJ zu hoch gewählt wurde.

Auch die freigesetzte Konzentration von fast 5  $\mu\text{g}$  überschreitet die in der Literatur bekannte Konzentration <sup>[165]</sup> um das fast 10fache.

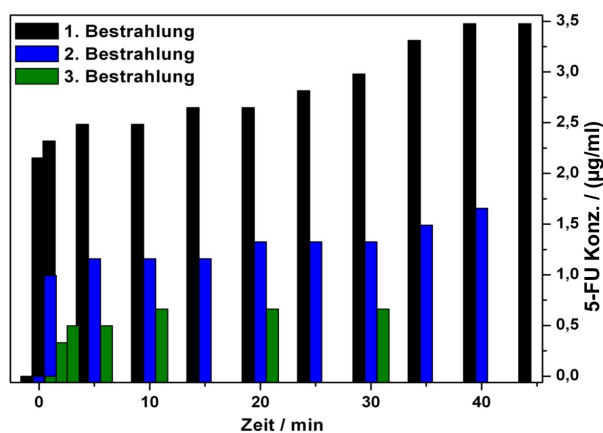


Abbildung 3.44: Histogramm der freigesetzten Konzentration von 5-FU.

Um zu prüfen, dass nicht während der Ein-Photon induzierten [2+2]-Cycloreversion andere Abbauprodukte entstehen, wurde nach jeder Bestrahlung die Kochsalzlösung entnommen und anhand dieser eine HPLC-Messung durchgeführt (Abb. 3.45). Es konnte dabei nur der freigesetzte Wirkstoff 5-FU detektiert werden.

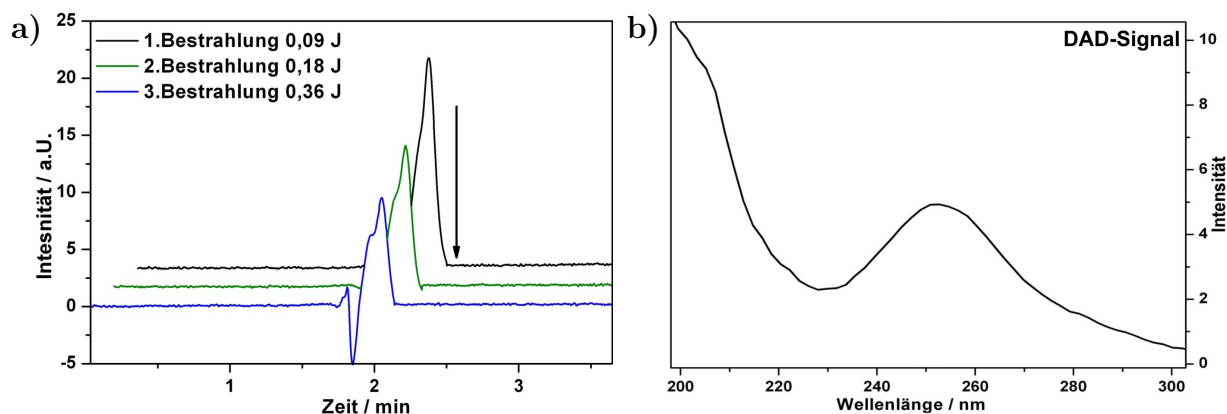
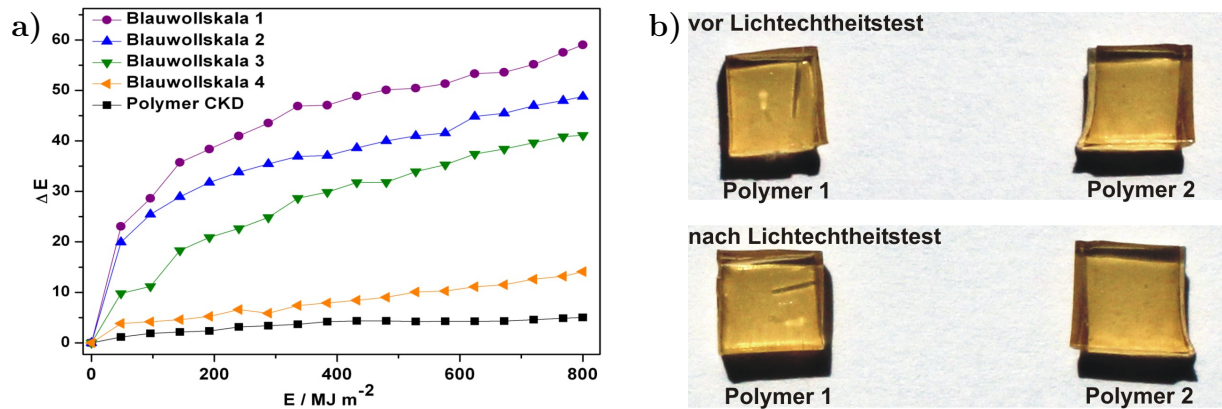


Abbildung 3.45: a) HPLC-Messung der wässrigen Phase nach dem TPA-Experiment.  
b) DAD-Signal des 5-FU Peaks.

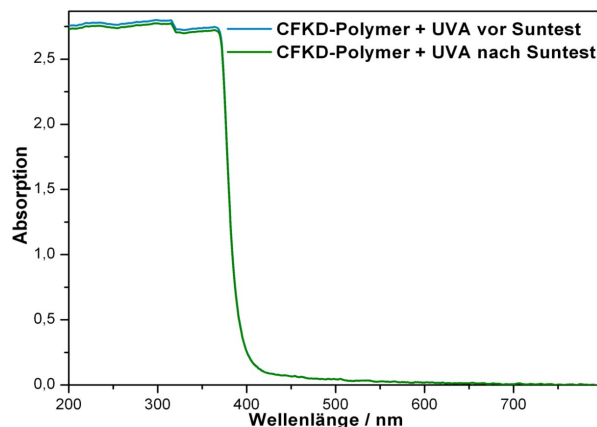
### 3.11.5 Lichtechtheitstest mit CFKD funktionalisierten Polymer

Wie in Kapitel 4.4.4 beschrieben wurde der Lichtechtheitstest anhand des CFKD-funktionalisierten Polymers durchgeführt. Auch hier wurde die Lichtechtheit mit Hilfe von vier Referenzteststreifen der Blauwollskala (1-4) bestimmt (Abb. 3.46).



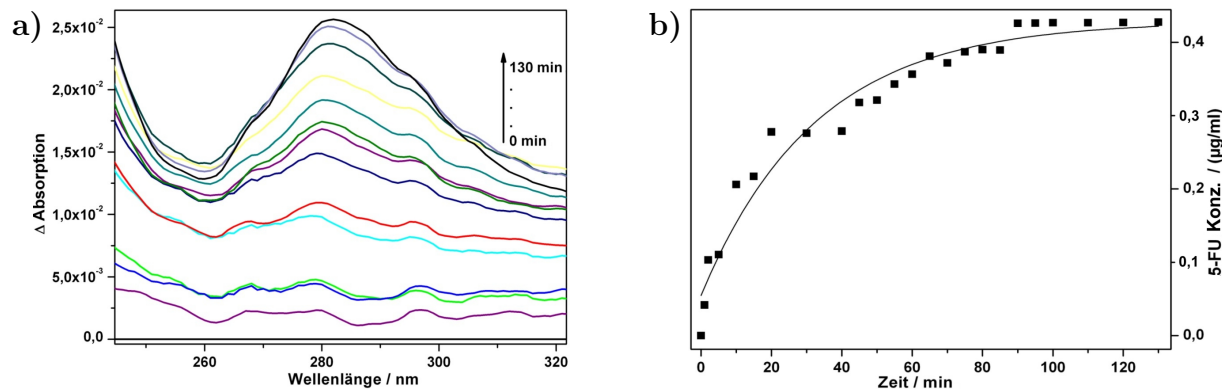
**Abbildung 3.46:** Lichtechtheitstest. a) Darstellung der  $\Delta E$  Werte in Abhängigkeit zur eingestrahlten Energiedosis. b) Zwei Polymerproben vor und nach der Bestrahlung.

Für das Polymer wurde ein  $\Delta E$ -Wert von 6,5 enthalten, der einer Lichtechtheit von 7 und somit einer guten Lichtechtheit entspricht <sup>[167]</sup>. Es wurde vor und nach dem Lichtechtheitstest jeweils ein UV/Vis-Spektrum aufgenommen, dabei konnte festgestellt werden, dass die Bestrahlung keine negativen Auswirkungen auf das Polymer hatte (Abb. 3.47).



**Abbildung 3.47:** UV/Vis-Messung von CFKD-Polymer vor und nach dem Lichtechtheitstest.

Um zu testen, inwieweit das Polymer noch funktionsfähig ist und die [2+2]-Cycloreversionsreaktion durch Ein-Photonen-Absorption durchgeführt werden kann, wurde das Polymer 5 min mit einer LED nach Vorschrift 4.4.2 bestrahlt und die Freisetzung des Wirkstoffs 5-FU anhand photometrischer Messungen bestimmt (Abb. 3.48).



**Abbildung 3.48:** Ein-Photonen-Absorptions-Experiment mit 5-FU-syn-hh-HD Polymer. a) UV-Differenzspektren. b) Freigesetzte Konzentration von 5-FU in Abhängigkeit zur Diffusionszeit.

Da das Polymer UV-Absorber enthält, wird eine bestimmte Menge an eingestrahnten Photonen absorbiert. Aufgrund dessen ist die Freisetzung wesentlich geringer als im Vergleich zu der Zwei-Photonen induzierten Wirkstofffreisetzung.

Insgesamt wurden aus dem Polymer  $0,48 \mu\text{g/mL}$  5-FU freigesetzt. Das entspricht ungefähr 1,45 % 5-FU.

Durch diesen Versuch konnte gezeigt werden, dass aus diesem funktionalisierten Polymer Intraokularlinsen gefertigt und implantiert werden können, dass ein gewisser Prozentsatz an UV-Strahlung keine negativen Auswirkungen auf die Funktionalität des Polymers hat und die Kreuzdimer Moleküle durch Bestrahlung aktiv und nichtinvasiv gespalten werden können, um den geforderten Wirkstoff freizusetzen.

Gegenüber H5FU-Homodimere hat Chalkon den Vorteil, dass es eine viel höhere Zwei-Photonen-Quantenausbeute besitzt. Allerdings ist die Synthese zeitaufwändiger. Durch die photochemisch induzierte E/Z-Isomersierung<sup>[33, 168]</sup> während der Bestrahlungsphase im Rayonet-Reaktor reagieren verhältnismäßig wenig Chalkon-Moleküle mit H5FU zu einem Kreuzdimer.

Dadurch ist die Ausbeute relativ gering. Allerdings wird durch die hohen Quantenausbeuten bei der photoinduzierten Spaltung weniger Kreuzdimer als Homodimer für die Funktionalisierung eines Polymers benötigt.



Das Kreuzdimer ist wie die Homodimere thermisch stabil. Anhand diesem Experiment konnte bewiesen werden, dass das funktionalisierte Polymer sowohl lichtecht ist, als auch genügend 5-FU nach Ein-Photonen induzierter Bestrahlung freisetzt, um eine mögliche Eintrübung der IOL (PCO) zu behandeln.

Für die TPA induzierte Freisetzung aus dem CFKD funktionalisierten Polymer wurden im Vergleich zu den Homodimer-Polymer, geringere Energien für die Freisetzung gewählt. Dabei handelt es sich nicht um die optimal gewählten Energien, wie es anhand Abschnitt 3.11 erläutert wurde. Anhand der Resultate der TPA-Experimente an den Monomeren Verbindungen wird deutlich, dass viel mehr Energie aufgewendet werden muss, um die gleiche Spaltungseffizienz von den Homodimeren zu erzielen.

Ertragsreicher und weniger aufwändig ist die Synthese und Reinigung der Homodimere. Aufgrund dessen wäre es sinnvoll weitere Experimente durchzuführen, um zum einen anhand von Zelltests (bestehend aus LECs) die optimale Beladung der Polymere zu bestimmen, und zum anderen die optimale Energiedichte der Zwei-Photonen-induzierten Wirkstofffreisetzung zu bestimmen.

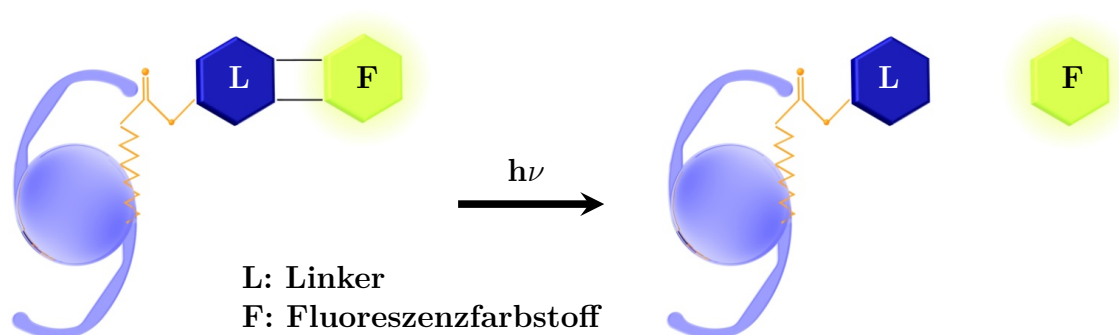
## 3.12 Fluoreszierende polymere Freisetzungssysteme

Das Auge ist ein Mehrkompartimenten-System. Es existieren zwar Modelle, die es in drei Kompartimente aufteilen, allerdings beschreiben diese nur grob die mögliche Pharmakodynamik eines Wirkstoffs im Auge [169–171].

Das Auge besteht aus mehreren Barrieren, die sowohl als lipophile, als auch als hydrophile Barriere fungieren und die somit bevorzugt durchlässig für eben jene Wirkstoffe sind. Da die funktionalisierten IOLs direkt am Kapselsack fixiert sind und der Wirkstoff bei Bestrahlung nichtinvasiv freigesetzt wird, ist es wichtig mit diesem Model zu zeigen, was mit dem Wirkstoff passiert, wenn er durch SPA- und TPA-Prozesse freigesetzt wird. Offene Fragestellungen sind nach wie vor:

Wie der Stoff aus der Linse und aus welcher Seite er bevorzugt diffundiert, wenn das Polymer nur von einer Seite bestrahlt wird.

Basierend auf diesen ungeklärten Fragen wurde ein Polymer entwickelt, das sich aus einem bekannten Linker (4-tert-Butyldimethylsilyloxychalkon, COTBS) und einem Fluoreszenzfarbstoff zusammensetzt (Abb. 3.49).



**Abbildung 3.49:** Schematische Darstellung einer mit einem Fluoreszenzfarbstoff funktionalisierten Intraokularlinse. Dieser wird nach Bestrahlung bei 266 nm (SPA-Prozess) oder 532 nm (TPA-Prozess) freigesetzt.

Es wurden drei Systeme mit jeweils 4-tert-Butyldimethylsilyloxychalkon (COTBS) als photochemischer Linker mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen, wie 8-acetoxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on (BCA),

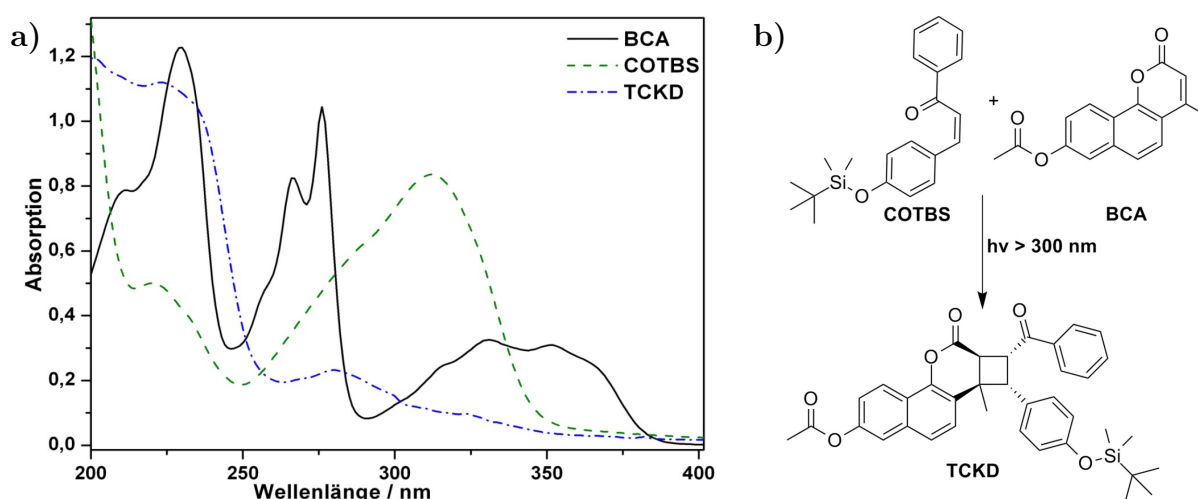
4-Benzylchinin, und Rhodamin getestet, wobei das BCA-COTBS-Kreuzdimer (TCKD) bis zum Polymer weiterverarbeitet werden konnte (Abb. 3.51) und deshalb zunächst näher beschrieben wird.



**Abbildung 3.50:** Fluoreszierende Polymer-Ronden, die mit TCKD copolymerisiert wurden.

### 3.12.1 Photochemische Eigenschaften des TCKD

Wie bei den Wirkstoff funktionalisierten Polymeren werden auch hier erst die photochemischen Eigenschaften des Kreuzdimers näher definiert, um eine Vergleichbarkeit zwischen dem fluoreszenzgelabelten und den Wirkstoff-Linker Kreuz- bzw. Homodimeren, ziehen zu können.



**Abbildung 3.51:** a) UV/Vis-Spektren des Chalkon-Trizyklus-Kreuzdimers TCKD. b) Schematische Darstellung der [2+2]-Cycloadditionsreaktion.

Durch Ausbildung des Cyclobutanrings während der [2+2]-Cycloadditionsreaktion (Abb.3.51 b) werden die charakteristischen Absorptionsbanden der beteiligten Moleküle eliminiert (Abb. 3.51 a).

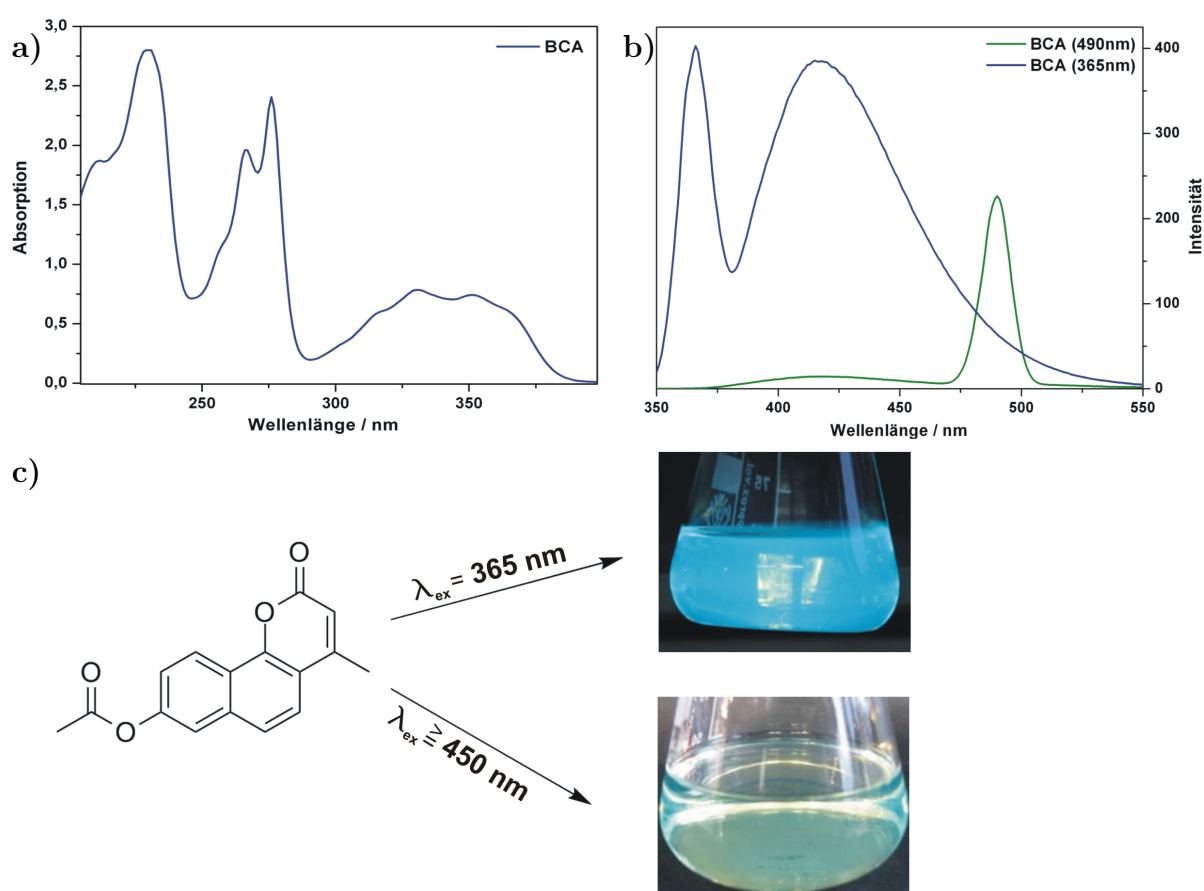
Durch die Ein-Photonen- und Zwei-Photonen-induzierte [2+2]-Cycloreversionsreaktion werden die Dimere wie in Kapitel 1.5 in ihre einzelnen Monomere gespalten. Dabei bilden sich die konjugierten  $\pi$ -Systeme aus.

Anhand der Zunahme des Absorptionsmaximums in diesem Bereich kann die Konzentration an freigesetztem Fluoreszenzfarbstoff BCA ermittelt werden.

Für die einzelnen Komponenten wurde durch entsprechende Verdünnungsreihen der Extinktionskoeffizient bestimmt (Tab. 3.5).

Mono- und Dimer-Moleküle	$\epsilon_{266} \frac{L}{mol \times cm}$
BCA	$3.093,10 \pm 135,19$
COTBS	$9.122,27 \pm 37,05$
TCKD	$3.301,78 \pm 143,72$

**Tabelle 3.5:** Extinktionskoeffizienten von BCA, COTBS und TCKD, gemessen bei 266 nm in Acetonitril.



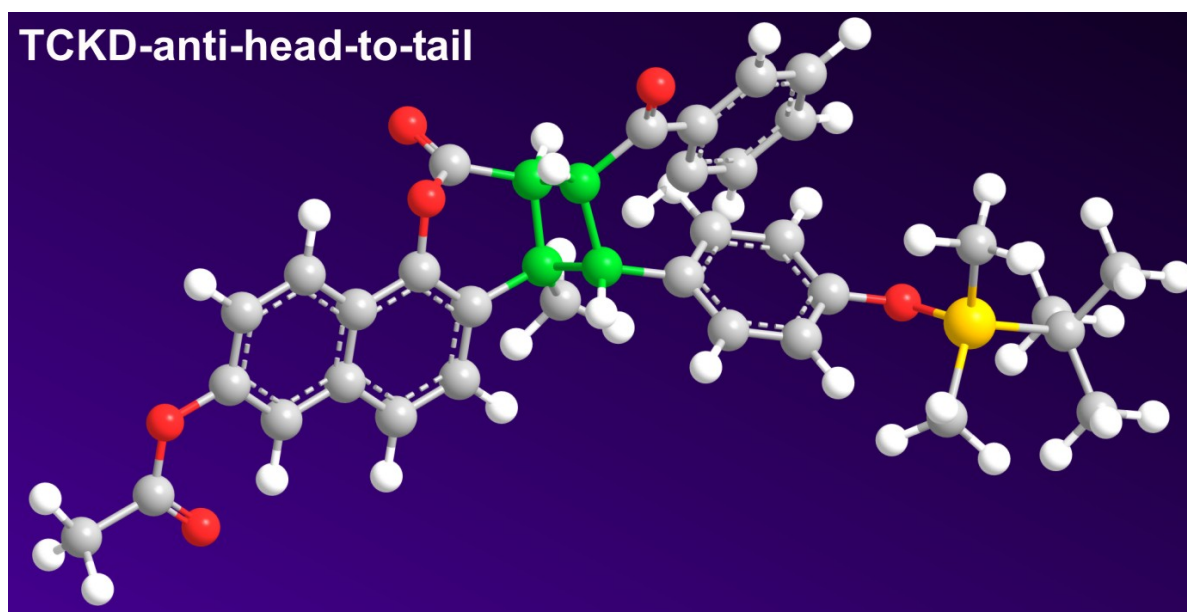
**Abbildung 3.52:** a) UV-Spektrum des acylierten Trizyklusmoleküls (BCA). b) Emissionsspektrum nach Anregung des Moleküls bei 365 nm und 490 nm. c) Fotografische Darstellung der Fluoreszenz von BCA durch Anregung bei verschiedenen Wellenlängenbereichen.

Bei der Wahl des fluoreszierenden Moleküls war es wichtig, dass dieses im Anregungsbereich zum einen eine ausreichende Absorption aufweist und zum anderen diese nicht zu groß ist, damit das Molekül in dem Bereich nicht die Energie zur Anregung für die [2+2]-Cycloaddition einspeist. Anhand dieser Fakten wurde ein Molekül gewählt, dass diese Eigenschaften aufweist (Abb. 3.52).

Die Coumarin ähnliche Verbindung BCA zeigt eine außergewöhnlich intensive blaue Fluoreszenz, wenn sie im Bereich von 355 nm angeregt wird. Diese weist sogar bei Tageslicht (siehe Abb. 3.52 c) eine ausgeprägte grüne Fluoreszenz auf.

Aufgrund der Tatsache, dass Coumarin photochemische [2+2]-Cycloadditionen eingehen kann, wurde diese Komponente als fluoreszierender Teil des Kreuzdimers gewählt.

Wie im Kapitel 4.2.1 erläutert wurde die absolute Konfiguration durch 2D-NMR Spektroskopie charakterisiert und als anti-head-to-tail bestimmt. Dabei wird der Kopfteil durch die Carbonylgruppe des Trizyklus-Moleküls (BCA) beschrieben und der Schwanz durch die TBDMS-Schutzgruppe am Linkermolekül COTBS (Abb. 3.53).

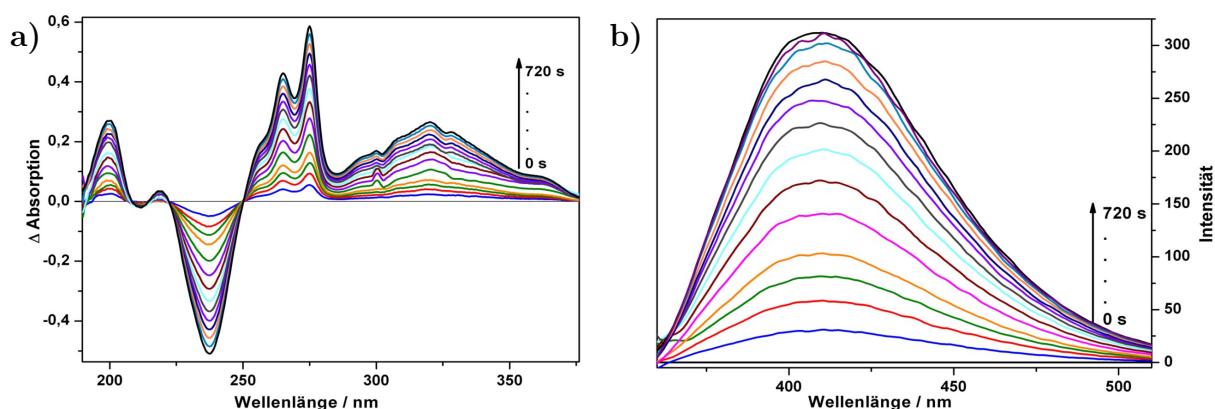


**Abbildung 3.53:** Absolute Konfiguration des TCKD-Moleküls, durch NMR Messungen als anti-head-to-tail bestimmt (grün=Cyclobutanring, grau=Kohlenstoff, rot=Sauerstoff, weiß=Wasserstoff, orange=Silizium).

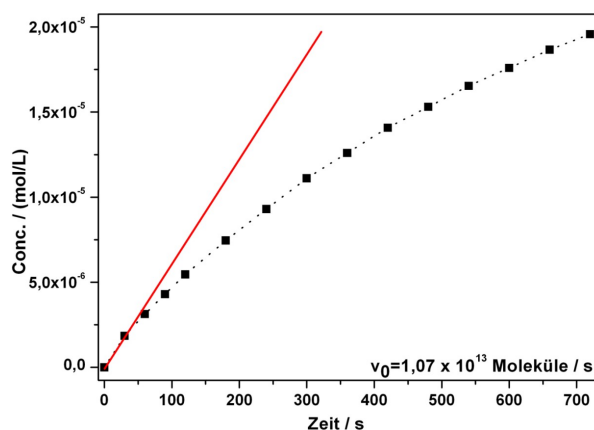
### 3.12.2 SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der TC-Kreuzdimere

Wie in Kapitel 1.5 erläutert wurden die SPA-Experimente nach folgenden Anweisungen in Acetonitril durchgeführt. Dabei wurde eine Konzentration des Kreuzdimers von  $0,11 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  in 2 mL Acetonitril gewählt.

Für die Berechnung der freigesetzten Trizyklus-Konzentration (BCA) wurde der Extinktionskoeffizient bei 352 nm gewählt ( $\epsilon_{352\text{nm}} = 10.143,48 \frac{\text{L}}{\text{mol} \times \text{cm}}$ ), da dort das Linker-Molekül COTBS keine nennenswerte Absorption aufweist und somit die Konzentrationsberechnungen nicht beeinflussen.



**Abbildung 3.54:** Ein-Photonen-Absorption induzierte [2+2]-Cycloreversion dargestellt durch: a) UV-Differenzspektren und b) Fluoreszenzspektren aufgenommen in Abhängigkeit von der Zeit.



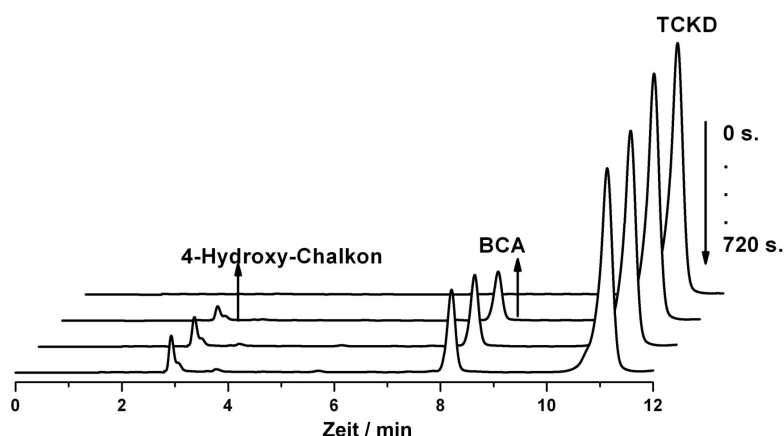
**Abbildung 3.55:** Bestimmung von  $v_0$  aus den freigesetzten Konzentrationen an BCA anhand der gemessenen UV/Vis-Spektren.

Wie in Abb. 3.54 zu entnehmen konnte aus dem Ein-Photonen-Absorptions-Experiment eine Anfangsgeschwindigkeit von  $1,07 \times 10^{13}$  Moleküle/s bestimmt werden.

Die Quantenausbeute ist mit  $\Phi_{266nm}^{SPA} = 0,0297$  deutlich höher als die des H5FU-Chalkon-Kreuzdimers CFKD (Kapitel 3.11.3). Parallel zu den UV/Vis-Messungen wurde die ansteigende Fluoreszenzintensität gemessen, um mit dieser Messung zusätzlich die Anfangsgeschwindigkeit der Cycloreversionsreaktion zu bestimmen. Anhand dieser photometrischen Messung konnte aus der ansteigenden Fluoreszenzintensität (korreliert mit den freigesetzten fluoreszierenden BCA Molekülen), die absolute Konzentration an BCA-Molekülen bestimmt werden.

Diese Messung war grundlegend, um zu zeigen, dass aus der zunehmenden Fluoreszenz die Konzentration und damit die Quantenausbeute bestimmt werden kann.

Zusätzlich zu den photometrischen Messungen wurden HPLC-Messungen durchgeführt, um sicherzustellen, dass das Kreuzdimer nur in BCA bzw. Chalkon gespalten wurde und nicht eventuelle Abbauprodukte bei der Bestrahlung bei 266 nm entstanden sind (Abb. 3.56). Wie aus der Abb. 3.56 zu entnehmen, wird TCKD nur in BCA und Chalkon gespalten. Die tert-Butyldimethylsilyloxy-Schutzgruppe wurde wahrscheinlich durch das im Elutionsmittel enthaltene angesäuerte Wasser hydrolysiert.

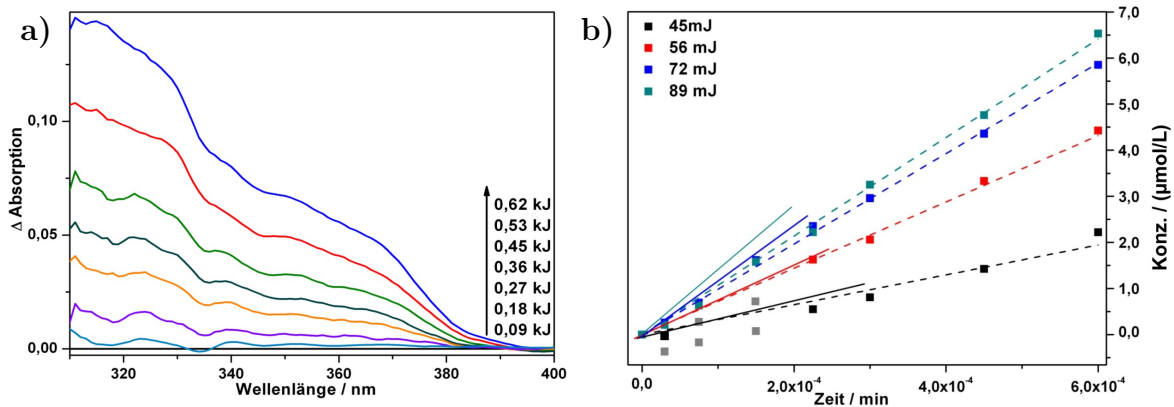


**Abbildung 3.56:** Isokratische HPLC-Messungen der [2+2]-Cycloadditionsreversionsreaktion bei 266 nm, mit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) als Elutionsmittel. Retentionszeit: TCKD 10,031 min, BCA 8,05 min, Chalkon 2,76 min.

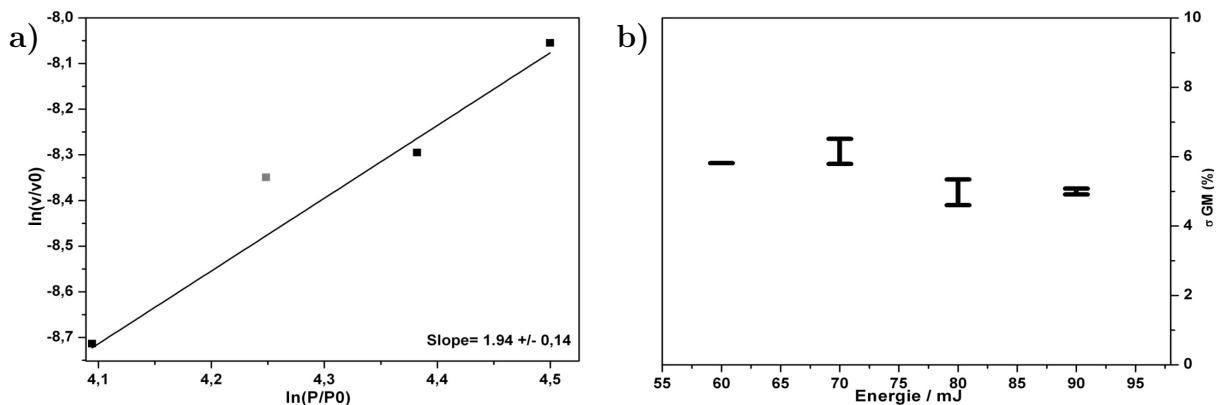
Die TPA-Experimente wurden für die folgenden vier Energien: 45 mJ, 56 mJ, 72 mJ und 89 mJ mit einer Pulsfrequenz von 20 Hz, wie in Kapitel 1.5 beschrieben, durchgeführt (Abb. 3.57).

Für das Experiment wurde eine Konzentration des Kreuzdimers von  $1,90 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  in Acetonitril gewählt.

Der Goeppert-Meyer-Wert des TC-Kreuzdimers ist mit 5,48 GM kleiner als der von CFKD (Kapitel 3.11.4). Wie dort bereits erläutert wurde, besitzt CFKD eine sehr kleine Quantenausbeute. Diese wird nach Gleichung 1.11 in die Zwei-Photonen-Quantenausbeute mit einbezogen. Daraus resultiert ein verhältnismäßig hoher Goeppert-Meyer-Wert. Da TCKD eine normale Quantenausbeute von 2,97 % aufweist, wirkt sich dies nicht so gravierend auf die Zwei-Photonen-Quantenausbeute aus.



**Abbildung 3.57:** a) UV/Vis-Differenzspektren, aufgenommen nach dem jeweiligen Bestrahlungsintervall b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von der ansteigenden 5-FU-Konzentration zur Bestrahlungszeit.



**Abbildung 3.58:** a) Doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  gegen die Pulsleistungen. b) Relative Fehlerbetrachtung der berechneten GM-Werte.

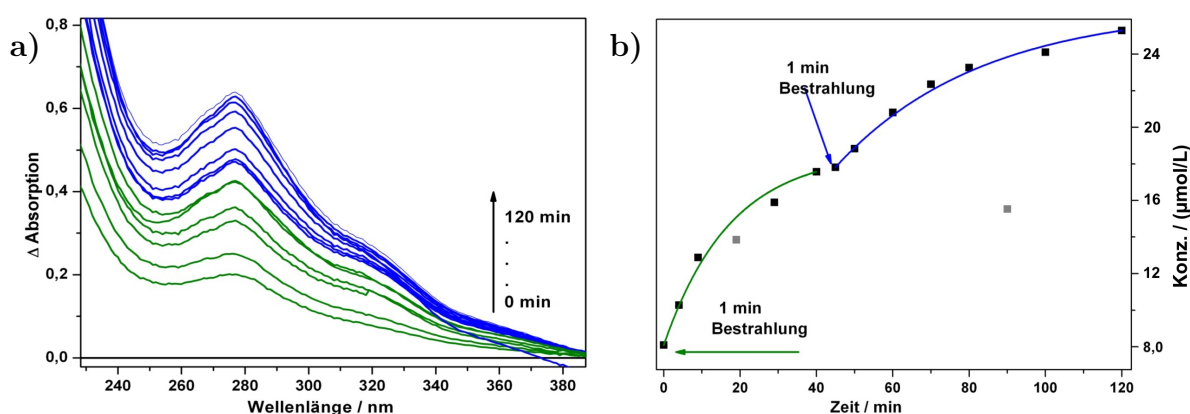
Aus den ermittelten Werten konnte eine doppeltlogarithmische Auftragung (Abb. 3.58) erzeugt werden, die als Steigung den Wert  $1,94 \pm 0,14$  ergab. Dies entspricht dem theoretischen Wert von 2,0.



### 3.12.3 Ein-Photonen induzierte Freisetzung an TCKD funktionalisiertem Polymer

Wie in Kapitel 1.5 beschrieben wurden die Polymer-Ronden in Wasser eingelegt, um sie zum einen für die SPA- und TPA-Experimente zu hydratisieren und zum anderen überflüssigen Photostarter bzw. nicht einpolymerisierten UV-Absorber zu entfernen. Nach vier Wochen, in denen das Polymer in Wasser hydratisiert wurde, wurde es wie in Kapitel 1.5 beschrieben durch Autoklavieren sterilisiert.

Eine Polymer-Ronde mit einem Durchmesser von 0,6 cm und einer Dicke von 0,25 cm (gequollener Zustand) wurde in der dafür angefertigten Halterung fixiert und in eine Küvette geschoben, die 2 mL 0,9% ige Kochsalzlösung enthielt. Anschließend wurde das Polymer 1 min bestrahlt, diese Zeit reicht aus, da das Polymer keinen UV-Absorber enthielt (siehe Abb. 3.58 a und b).

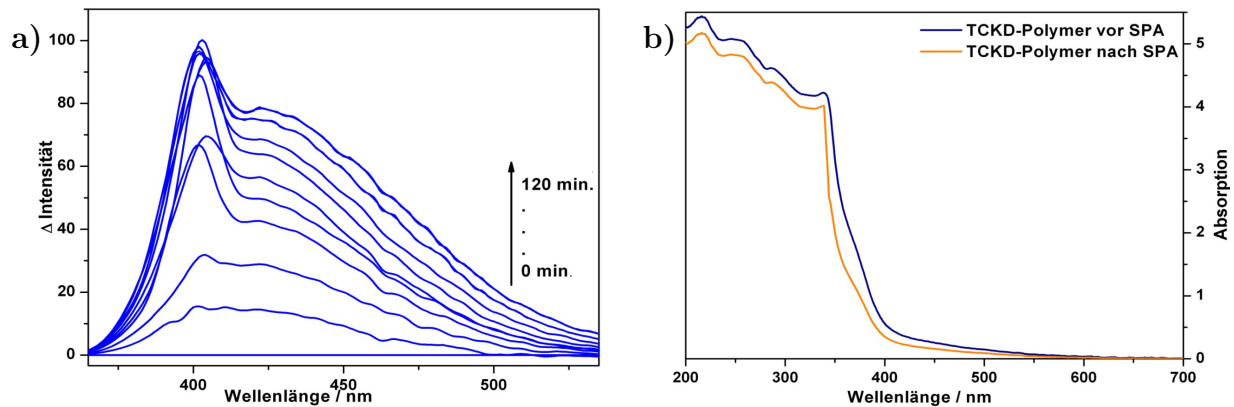


**Abbildung 3.59:** SPA-Experiment an TCKD-Polymer ohne UV-Absorber. a) UV-Differenzspektren b) ermittelte freigesetzte Konzentration an fluoreszierenden BCA.

Parallel zu den UV-Messungen wurde die zunehmende Fluoreszenzintensität des diffundierten BCAs gemessen (siehe Abb. 3.60 a).

Das SPA-Experiment am TCKD-Polymer zeigte, dass genügend Trizyklus (BCA) freigesetzt wird, um es photometrisch zu detektieren und dass das System wiederholt aktiviert werden kann.

Zu den UV-Messungen wurde gleichzeitig die ansteigende Fluoreszenz gemessen (Abb. 3.60 a). UV/Vis-Messungen des Polymers vor und nach den SPA-Experimenten sind ein weiterer Nachweis, dass genügend BCA-Moleküle aus dem Polymer diffundieren, um die Absorption des Polymers nachweislich zu ändern (Abb. 3.60 b).

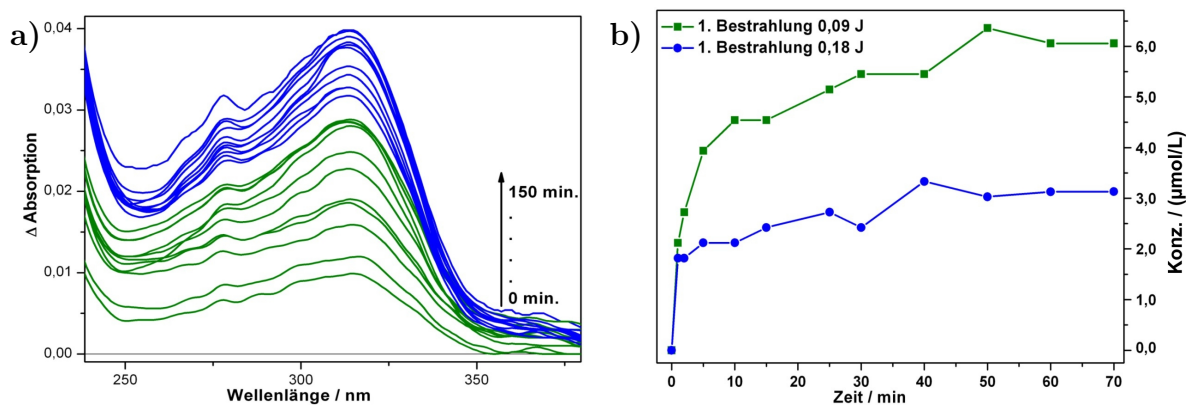


**Abbildung 3.60:** a) Fluoreszenzmessungen durchgeführt parallel zum SPA-Experiment b) UV/Vis-Messung TCKD-Polymer vor und nach Ein-Photonen-Absorption.

### 3.12.4 Zwei-Photonen induzierte Freisetzung an TCKD funktionalisiertem Polymer

Entsprechend der Ein-Photonen induzierten Freisetzung wurde auch die Zwei-Photonen induzierte Wirkstofffreisetzung getestet.

Für dieses Experiment wurde eine, in Wasser gequollene Polymer-Ronde mit den Maßen (0,8 cm  $\times$  0,6 cm  $\times$  0,25 cm) in einer Polymer-Halterung wie in Kapitel 1.5 fixiert und jeweils mit 10.000 Pulsen der Energie von 80 mJ mit einer Pulsfrequenz von 20 Hz bei 532 nm bestrahlt.



**Abbildung 3.61:** Diffusion von BCA nach Zwei-Photonen-Absorption aus TCKD-Polymer mit UV-Absorber. a) UV-Differenzspektren aufgenommen in einem bestimmten Zeitintervall b) Bestimmung der freigesetzten Konzentration an BCA.

Die Bestrahlung wurde zweimal an derselben Stelle des Polymers durchgeführt. Die Diffusion des freigesetzten BCA wurde durch UV-Messung der 0,9% igen NaCl-Lösung und Fluoreszenzmessung detektiert.

Wie in Abb. 3.61 dargestellt wird deutlich, dass bei ansteigender freigesetzter BCA-Konzentration die typische Absorptionsbande bei 275 nm sichtbar ist. Insgesamt wurden in 150 min 6,04 µg/mL BCA freigesetzt. Dies entspricht 77 % der freigesetzten Konzentration von 5-FU aus dem CFKD-Polymer.

Die Diffusionszeit von 150 min à 75 min für eine Messperiode ist um 40 % höher, da die Coumarinkomponente im BCA-Molekül eine geringere Wasserlöslichkeit aufweist, als das 5-FU. Aus diesem Grund dauert es länger bis das freigesetzte BCA-Molekül aus dem Polymer diffundiert. Das wird anhand der visuellen Darstellung (Abb. 3.62) verdeutlicht. Vergleicht man die Freisetzungskinetik beider funktionalisierter Polymere wird deutlich, dass die Freisetzung aus dem BCA- bzw. CFKD- Polymer sich ähneln.

Würde ein Polymer mit beiden Kreuzdimeren funktionalisiert werden, bedeutet dies für die Freisetzungskinetik, dass auf ca. ein Molekül BCA 2,5 Moleküle 5-FU kommen.

Anhand dieser Angaben könnte man die Freisetzung von 5-Fu aufgrund der Fluoreszenz des BCA-Moleküls zurückrechnen.

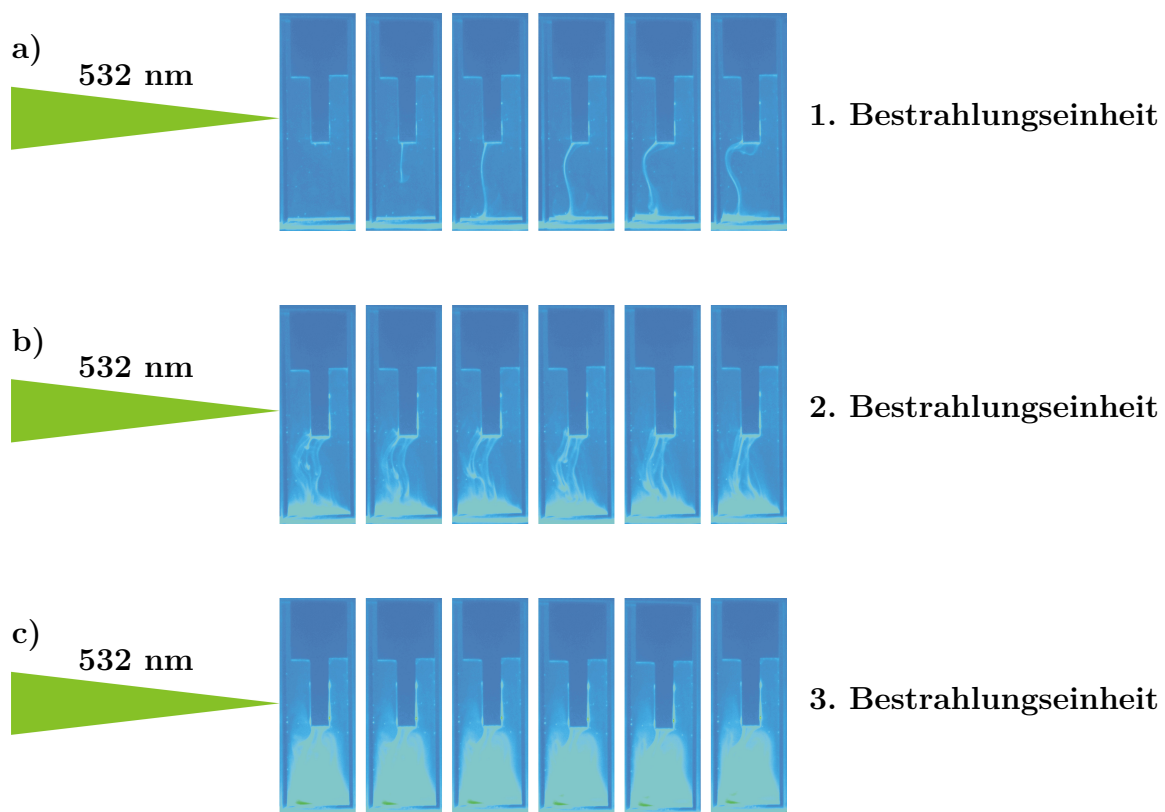
### 3.12.5 Visuelle Darstellung der TPA-Experimente anhand des TCKD-funktionalisierten Polymers

Mit diesem Experiment galt es zu klären, auf welche Art und Weise der Wirkstoff aus dem Polymer diffundiert. Geschieht dies punktuell dort, wo der Laser mit einem Durchmesser von 5,5 mm strahlt und wird der Farbstoff auf beiden Seiten oder nur einseitig freigesetzt. Dafür wurde wie in Kapitel 4.2.5 beschrieben ein Kamerasystem verwendet, welches pro Bestrahlungseinheit 500 Bilder anfertigte.

So konnte anhand von Fluoreszenzmessungen zum einen dargestellt werden, dass das Fluoreszenz-Linker-System funktionsfähig ist und berechnen, wie viel Trizyklus-Moleküle bei der Bestrahlung freigesetzt wurden, und zum anderen wie der Fluoreszenzfarbstoff aus dem Polymer diffundiert.

Dies erfolgte wie in Kapitel 4.2.5 beschrieben.

Es wurde in bestimmten Intervallen die Fluoreszenz durch Falschfarbendarstellung aufgezeichnet.



**Abbildung 3.62:** Visuelle Darstellung der Diffusion von BCA nach einem Zwei-Photonen-Absorptions-Experiment.

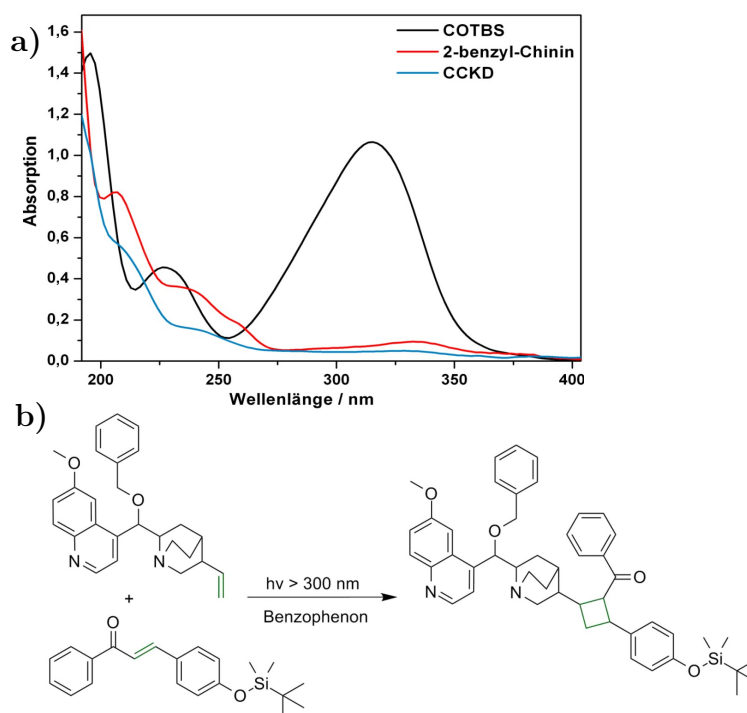
Wie in Abb. 3.62 dargestellt wird der Fluoreszenzfarbstoff bevorzugt auf der Seite freigesetzt, wo die Bestrahlung durchgeführt wurde. Die Aufnahmen verdeutlichen, dass bevorzugt von der Bestrahlungsseite ausgehend der Farbstoff abgespalten wird und diffundiert. Allerdings mit fortlaufender Bestrahlungseinheit auch auf der anderen Seite die Fluoreszenz-Moleküle diffundierten.

Dadurch, dass BCA wie alle Coumarin-Komponenten eine geringere Wasserlöslichkeit als der verwendete Wirkstoff 5-FU zeigt, wird im Vergleich zu den photochemisch induzierten Reaktionen der CFKD funktionalisierter Polymere weniger Material freigesetzt.

### 3.13 Chinin als möglicher Fluoreszenzmarker für polymere Systeme

Als weiteres Molekül, welches eine freie konjugierte Doppelbindung im Molekülgerüst aufwies, wurde Chinin gewählt und als passender Linker wie beim TCKD das Chalkon verwendet.

Im Folgenden werden die photochemischen Eigenschaften des 2-Benzyl-Chinin-4-tert-butyldimethylsilyloxy-Chalkon Kreuzdimers näher beschrieben (CCKD).



**Abbildung 3.63:** a) UV/Vis-Spektren der einzelnen Komponenten und des entstehenden CCKDs. b) Schematische Darstellung der [2+2]-Cycloadditionsreaktion.

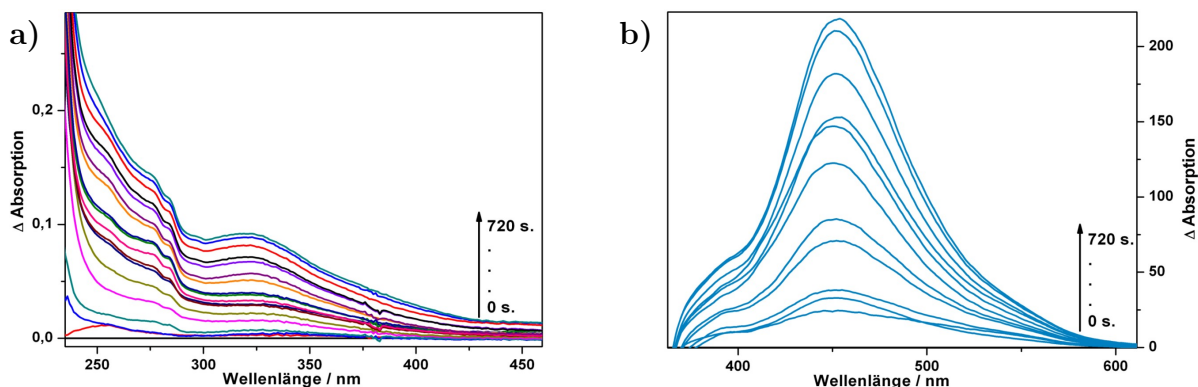
Wie in den vorangegangenen Kapiteln erläutert, ändern sich im Vergleich zu den einzelnen Monomer-Molekülen, durch die photochemisch induzierte Cyclobutanringbildung, die Absorptionsmaxima der entstandenen Kreuz- und Homodimere (Abb. 3.63).

Wie im Kapitel 4.5.10 anhand von HPLC-Messungen gezeigt werden konnte, entstehen neben dem Kreuzdimer viele Abbau- und Nebenprodukte bei der photochemischen [2+2]-Cycloaddition im Rayonet-Reaktor.

Es erwies sich durch nachfolgende Reinigungsprozesse schwierig genügend Kreuzdimer zu isolieren, um ein gut auswertbares NMR-Spektrum zu erhalten. Aufgrund dessen wurde neben LC/MS-Messungen, die Fähigkeit zur [2+2]-Cycloreversion des Kreuzdimers mit Hilfe photometrischer Messungen untersucht.

Zunächst wurden SPA-Experimente wie in Kapitel 1.5 beschrieben durchgeführt. Dafür wurde eine Lösung bestehend aus  $0,19 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  CCKD in Acetonitril hergestellt und mit der entsprechenden LED bei 266 nm bestrahlt. Parallel zu den UV/Vis-Messungen wurde die ansteigende Fluoreszenzintensität durch die zunehmende Freisetzung der Chinin-Moleküle gemessen (Abb. 3.64).

Für die Berechnung der freigesetzten 2-Benzyl-Chinin-Konzentration wurde der Extinktionskoeffizient bei 252 nm gewählt ( $\epsilon_{252\text{nm}} = 17.987,5 \frac{\text{L}}{\text{mol} \times \text{cm}}$ ), weil dort das Linker-Molekül COTBS keine nennenswerte Absorption zeigt und somit die Konzentrationsberechnungen nicht beeinflusst.

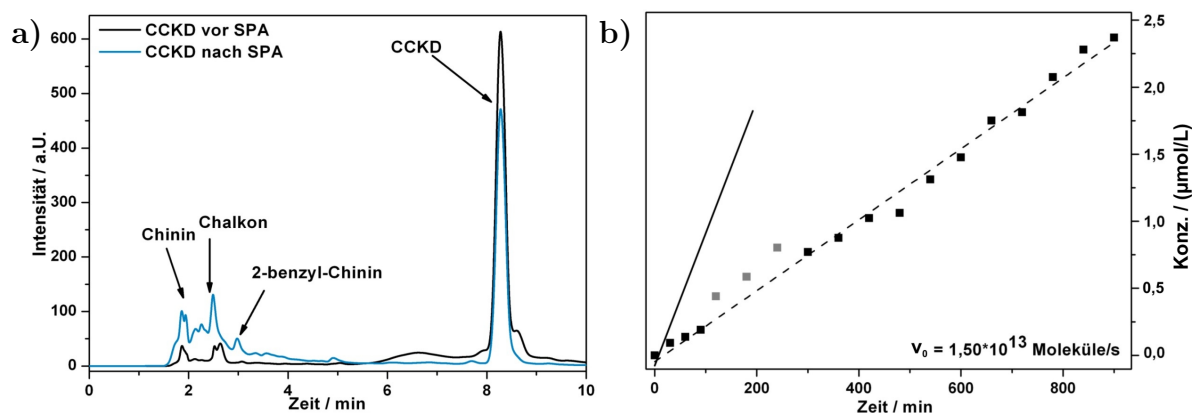


**Abbildung 3.64:** a) UV/Vis-Differenzspektren von CCKD, in Abhängigkeit von der Zeit, nach dem jeweiligen Bestrahlungsintervall b) Fluoreszenzspektroskopische Messung des freigesetzten Chinins in Acetonitril.

Als Anfangsgeschwindigkeit wurde  $v_0 = 1,50 \times 10^{13}$  Moleküle/s bestimmt (Abb. 3.65 b), die Einphotonenquantenausbeute von  $\varphi_{266\text{nm}}^{\text{SPA}} = 0,021$  ermittelt. Die SPA-Quantenausbeute ist somit um das fünffache höher als die des Chalkon-H5FU-Kreuzdimers (CFKD) (Kapitel 3.11.3), aber vergleichbar mit der Quantenausbeute des TC-Kreuzdimers (Kapitel 3.12.3).

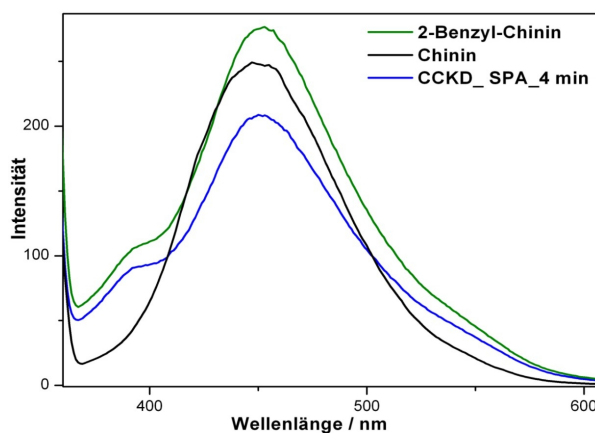
Um zu überprüfen, inwieweit wirklich 2-Benzyl-Chinin bzw. 4-Hydroxy-Chalkon freigesetzt wurde, wurde parallel zu den photometrischen Messungen eine HPLC-Messung durchgeführt. Hierfür wurde die Messung mit einem Elutionsgemisch ACN/H<sub>2</sub>O (75/25)

durchgeführt. Anhand dieser Messung und der dazu erfolgten LC/MS-Messungen konnte festgestellt werden, dass Chinin (1,98 min), Chalkon (2,4 min) und 2-Benzyl-Chinin (2,5 min) freigesetzt wurden (Abb. 3.65).



**Abbildung 3.65:** a) HPLC-Messung vor und nach der Ein-Photonen induzierten Freisetzung. b) Die aus Abb. 3.64 a) berechnete Konzentration an 2-Benzyl-Chinin.

Eine anschließende Messung der Fluoreszenzintensität, bei der die Fluoreszenz des freigesetzten 2-BC-Moleküls (2-Benzyl-Chinin) mit der des Chinins verglichen wurde, zeigte, dass eine Anregung bei 365 nm wie bei Chinin möglich war und das Emissionsmaximum bei 450 nm liegt.



**Abbildung 3.66:** Fluoreszenzspektren von Monomer und Dimer im Vergleich.

Aufgrund der hohen Absorption in den Anregungsbereichen wird zu viel Energie während der Bestrahlungsphase, die eigentlich für die [2+2]-Cycloaddition benötigt wird, eingespeist.



Dies hat zur Folge, dass zu viele Abbau- und Nebenreaktionen während der Reaktion im Rayonet-Reaktor stattfinden und somit die Gesamtausbeute auf ein Minimum reduziert wird.

Des Weiteren erwies sich die Isolation des Kreuzdimers als schwierig. Aus diesem Grund wurde die weitere Aufarbeitung bis zum Polymer nicht verfolgt. Es konnte gezeigt werden, dass auch potentielle Farbstoffe für die Synthese geeignet sind und eine [2+2]-Cycloreversion durch Ein-Photonen-Absorptionsprozesse induziert werden kann. Allerdings waren weitere Experimente aufgrund der geringen Ausbeute nicht möglich. Zudem erwiesen sich weitere Reinigungsprozesse als zu aufwändig.

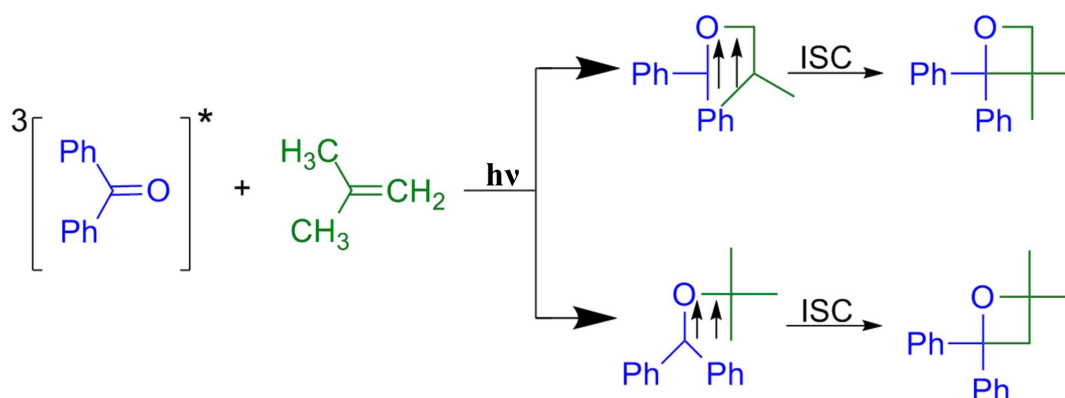
Eine weitere Möglichkeit einen Fluoreszenzfarbstoff zu synthetisieren war die Steglich-Veresterung. Hierfür wurde an 4-methyl-2-oxo-2H-Benzo[h]chromen-8-yl-acetate Homodimer (BCA-HD) ein Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt. Dazu bot sich Rhodamin B an, da es durch die Carbonsäurefunktion in der Lage ist über die Steglich-Veresterung mit einer Hydroxylfunktion verknüpft zu werden. Durch [2+2]-Cycloreversion bedingte Spaltung der Homodimere, wäre das Rhodamin abgespalten worden und aus dem Polymer diffundiert.

Dadurch, dass die BCA-Homodimere eine sehr schlechte Löslichkeit in vielen organischen Lösungsmitteln aufwies und die Reinigung der daraus entstandenen Moleküle nahezu unmöglich war, wurde nur eine Steglichveresterung am BCA durchgeführt, die durch entsprechende LC/MS- und HPLC-Messung identifiziert wurde (Kapitel 4.15).

### 3.14 Paternò-Büchi-Reaktion

Neben der schon in Kapitel 1.3 beschriebenen [2+2]-Cycloaddition nach Woodward-Hoffmann können im Rayonet-Reaktor durch die gegebenen Lichtverhältnisse weitere photochemische Reaktionen stattfinden, wie die gemischte [2+2]-Cycloaddition nach Paternò-Büchi <sup>[172,173]</sup>. Das erste Mal wurde 1909 durch E. Paternò und G. Chieffi die photochemische Reaktion von Benzaldehyd und 2-Methyl-2-buten beschrieben und das daraus resultierende [2+2]-Cycloaddukt untersucht <sup>[172]</sup>.

Die Reaktion wurde 1953 von Büchi erneut untersucht und die von Paternò postulierte Oxetan-Struktur bestätigt. Oxetane sind wichtige Komponenten von Molekülgerüsten mit relevanten biologischen Eigenschaften. Diese Struktureinheit ist in vielen Wirkstoffgruppen zu finden, wie unter anderen in den Taxanen (natürlich vorkommende Zytostatika) <sup>[174]</sup> oder in Merrilacton A, was eine neurotrophe Aktivität besitzt und erfolgreich bei der Behandlung von Alzheimer und Parkinson eingesetzt wird <sup>[175]</sup>, sowie verschiedene antiviral wirkende Oxetane die bereits in der Literatur beschrieben wurden <sup>[176–179]</sup>. Hierbei findet die Cycloaddition zwischen einer Carbonylverbindung und einem Alken statt (Abb. 3.67).



**Abbildung 3.67:** Schematische Darstellung der gemischten 2+2 Cycloaddition nach Paternò-Büchi.

Die Tripletts-1,4-Biradikale, die bei dieser Reaktion auftreten, haben bei aromatischen Ketonen oder Aldehyden eine Lebensdauer von Nanosekunden <sup>[40]</sup>. Die Anregung erfolgt so schnell ( $\approx 10^{-15}\text{s}$ ), dass sich die Molekülgeometrie nicht ändert (Franck-Condon-Prinzip) <sup>[180,181]</sup>.

Dies reicht dazu aus, dass die Oxetan-Bildung nicht stereospezifisch abläuft. Voraussetzung, dass diese Photoreaktion abläuft, ist, dass die Triplettenenergie des Olefins über der

Triplettenenergie der Carbonylverbindung liegt.

Ansonsten kann ein Triplet-Triplett-Energietransfer von der angeregten Carbonylverbindung zum Olefin stattfinden, gefolgt von einer Weiterreaktion wie z.B. der Dimerisierung. Das für diese Reaktion benötigte Licht sollte hierfür im Bereich der langwelligen Absorptionsbande liegen <sup>[174]</sup>.

Moleküle mit einer isolierten Carbonylverbindung (Aldehyde und Ketone) weisen im UV-Bereich zwischen 270 nm und 300 nm Absorptionsbanden auf <sup>[182]</sup>. Dies entspricht der symmetrieverbotenen Anregung eines nichtbindenden Elektrons am Sauerstoff-Atom in ein antibindendes  $\pi^*$ -Molekülorbital des  $\pi$ -Elektronensystems ( $n \rightarrow \pi^*$ ). Im Fall von Benzophenon verschiebt der Rest des Moleküls die Absorptionsbande bathochrom nach 333 nm <sup>[183]</sup>.

Dieses Verhalten kann mit Hilfe der energetischen Anhebung des höchsten besetzten Orbitals (HOMO) bei gleichzeitiger Absenkung des am niedrigstem unbesetzten Molekülorbitals (LUMO) erklärt werden, was die bathochrome Verschiebung sowohl des ( $n \rightarrow \pi^*$ )-Übergangs als auch des ( $\pi \rightarrow \pi^*$ )-Übergangs zur Folge hat <sup>[40,183]</sup>. Wenn die Elektronen einer Carbonylverbindung angeregt werden, kann dies anhand eines Jablonski-Diagramms beschrieben werden (Abb. 3.68).

Die Anregung  $\pi \rightarrow \pi^*$  im kurzwelligen Absorptionsbereich führt zu einem schnellen strahlungslosen Übergang, welcher auch als Internal Conversion (IC) bezeichnet wird, in einen energetisch niedrigeren Zustand. Bei diesem Zustand handelt es sich um den Singulett-Zustand ( $S_1$ ) und entspricht einem  $n \rightarrow \pi^*$ -Übergang. Der Spin des angeregten Elektrons wird dabei nicht verändert, sondern bleibt erhalten. Wenn die Anregung ein voll besetztes Molekülorbital betrifft, werden zwei Molekülorbitale halb besetzt, deren Elektronenspins sind infolgedessen gepaart. Der Spin des angeregten Elektrons kann allerdings entkoppelt werden, sodass diese Elektronen im folgenden Schritt parallele Spins aufweisen können.

Dieses Phänomen kann auch als Übergang von einem angeregten Singulettzustand  $S_1$  in einen Triplettzustand  $T_1$  bezeichnet werden. Dieser Übergang ist eigentlich verboten und wird als Intersystem Crossing (ISC) bezeichnet.

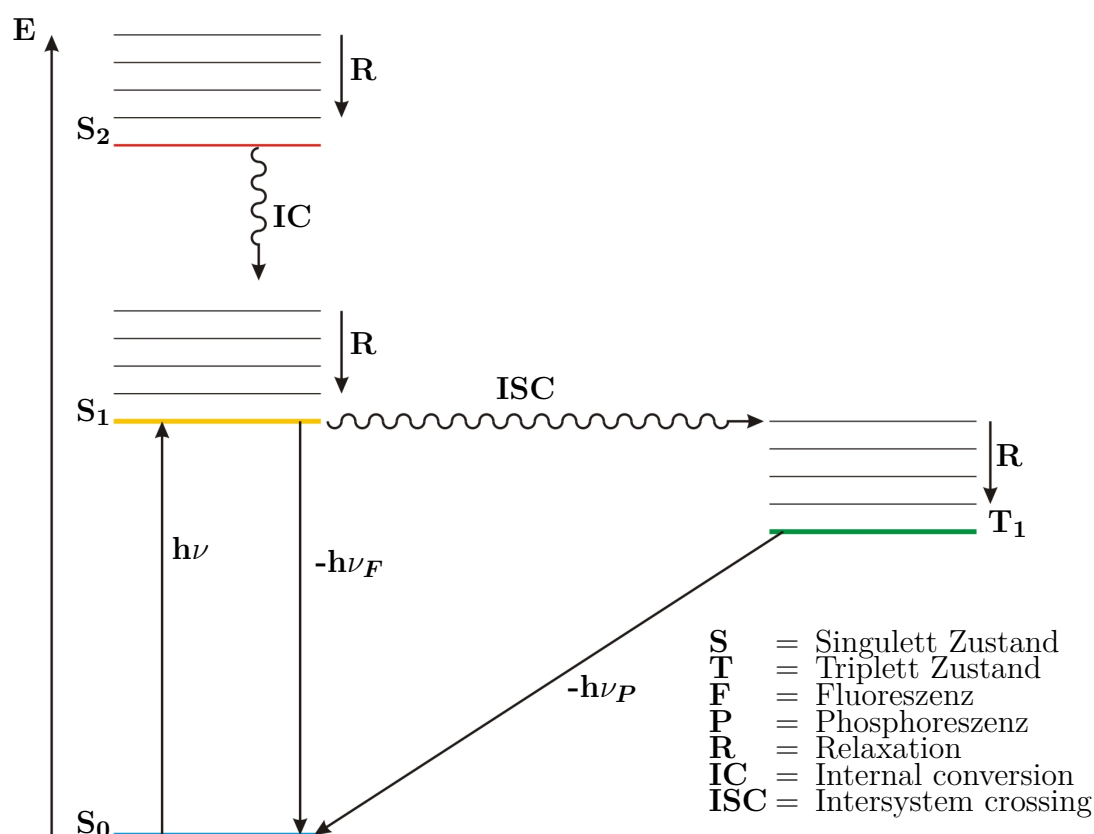


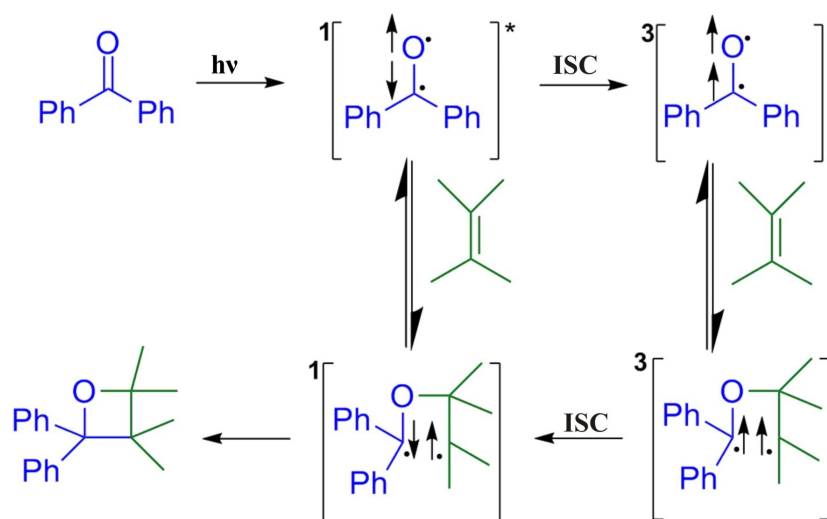
Abbildung 3.68: Jablonski-Diagramm für Carbonylverbindungen.

Dieser spinverbotene Übergang wird nur beobachtet, wenn  $S_1$  und  $T_1$  die gleiche Kernanordnung aufweisen und die Spin-Bahn-Kopplung groß genug ist<sup>[40,184]</sup>. Im Triplettzustand muss keine Spinpaarungsenergie aufgewendet werden.

Aufgrund dessen ist der Triplettzustand energieärmer und somit stabiler als der angeregte Singulettzustand  $S_1$ . Beide angeregte Grundzustände können durch Emission ( $S_1$ :Fluoreszenz,  $T_1$ :Phosphoreszenz) wieder in den jeweiligen Grundzustand zurückfallen.

Der Übergang vom Triplettzustand in den Grundzustand ist wieder mit einem verbotenen Spininversion verbunden und dauert dadurch wesentlich länger (bis  $10^{-3}$  s) als der Übergang von  $S_1$  zu  $S_0$  ( $\approx 10^{-9}$  s). Im Falle der Oxetan-Bildung nach Paternò-Büchi läuft die Reaktion wie folgt ab.

Die angeregte Carbonylverbindung kann hierbei auch als Alkoxybiradikal angesehen werden. Wird dieses in Gegenwart eines Alkens durch Bestrahlung angeregt, greift dieses 1,2-Biradikal die C-C-Doppelbindung des Alkens unter Bildung eines 1,4-Diradikals an (Abb. 3.69).



**Abbildung 3.69:** Mechanismus der Oxetan-Bildung nach Paternò-Büchi.

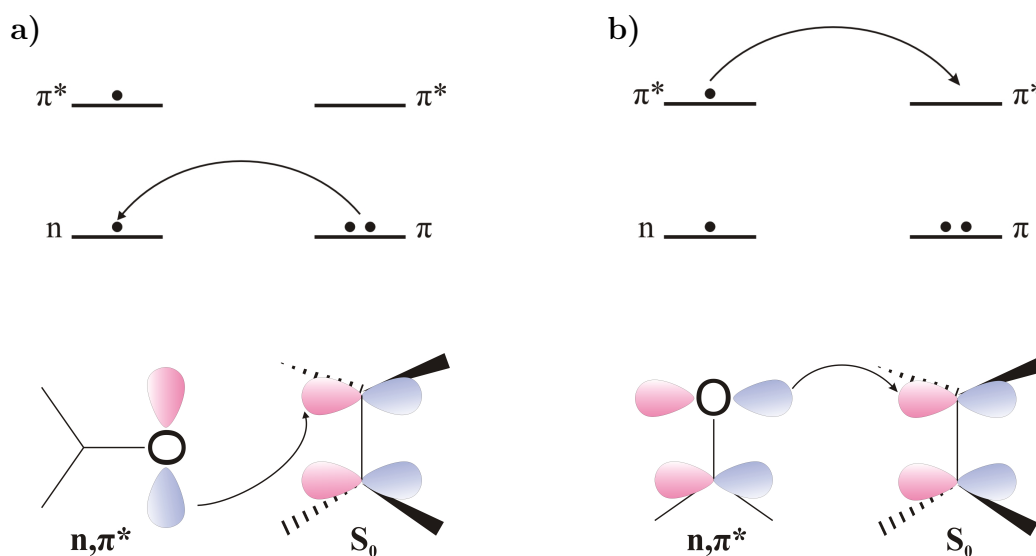
Der Angriff kann sowohl aus dem angeregten Singulettzustand, als auch aus dem Triplettzustand erfolgen. Wenn allerdings die jeweilige Lebensdauer der Zustände betrachtet wird, ist durch den Triplettzustand die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Interaktion erhöht. Das aus dieser Reaktion resultierende 1,4-Biradikal kann entweder in die einzelnen Substrate zurück reagieren oder unter Ringschluss zum entsprechenden Oxetan umgesetzt werden. Sollte dieser Prozess über das Triplett-Biradikal ablaufen, muss erneut ein ISC in den Singulettzustand stattfinden, damit die Elektronenpaarbindung wieder ausgebildet wird (Abb. 3.69). Wie bereits erwähnt kann dieser Prozess nur ablaufen, wenn die Spin-Bahn-Kopplung groß genug ist. Es gibt verschiedene Kriterien, die dies gewährleisten: **i)** der Abstand der spintragenden Atome zueinander, **ii)** die Orientierung der p-Orbitale an den Radikalzentren und **iii)** der ionische Charakter des korrespondierenden Singulett-Biradikals <sup>[185]</sup>. Dies ist auch der Grund für die verschiedenen Lebensdauern der Triplett-Biradikale die stark variieren können und abhängig von deren Molekülgeometrie (0,1 ns - 2000 ns) sind <sup>[186,187]</sup>.

Es gibt drei übergeordnete Mechanismen, wie biradikale Oxetane entstehen können, diese werden im Folgenden erklärt.

Als erstes existiert die Möglichkeit des elektrophilen Angriffs durch das halbbesetzte n-Orbital des Carbonylsauerstoffs am voll besetzten  $\pi$ -Orbital eines elektronenreichen Olefins. Dabei handelt es sich um einen HOMO-SOMO (Single Occupied Molecule Orbital) Angriff, der als „senkrechte Annäherung“ bezeichnet wird, da dieser senkrecht

zur Molekülebene des Olefins erfolgt (Abb. 3.70). Zweitens ein nucleophiler Angriff des halbbesetzten  $\pi^*$ -Orbitals des Carbonylsauerstoffs an das unbesetzte  $\pi^*$ -Orbital eines Elektronen armen Olefins, wodurch die Biradikale entstehen.

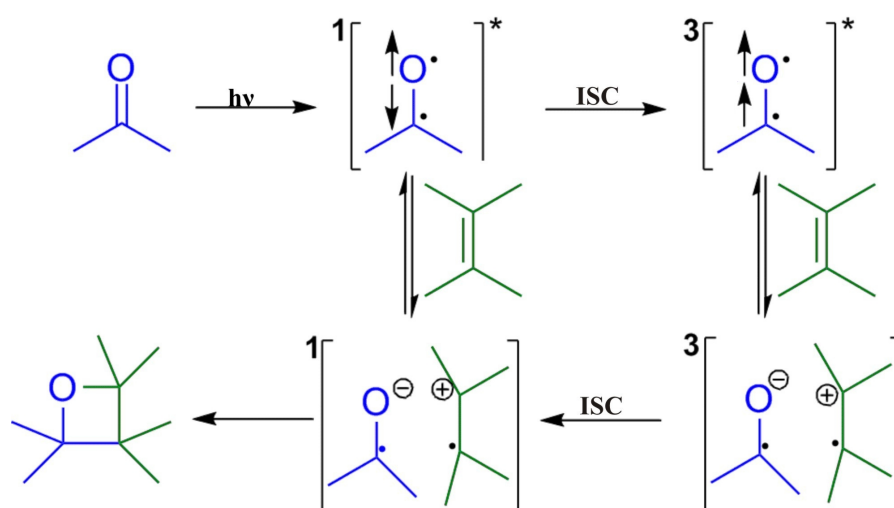
Dabei muss beachtet werden, dass dieser SOMO-LUMO Angriff auf der Ebene des Olefinmoleküls erfolgt und daher als eine „parallele Annäherung“ (Abb. 3.70) bezeichnet wird [188,189]. Um vorherzusagen welcher Angriff bevorzugt abläuft, muss die relative Position des Olefin-HOMOS und des Carbonyl-LUMOS betrachtet werden. Elektronenreiche Olefine bevorzugen z.B. eine senkrechte Annäherung. Im Vergleich dazu neigen elektronenarme Olefine zu einer parallelen Annäherung [190].



**Abbildung 3.70:** a) senkrechte Annäherung, b) parallele Annäherung.

Drittens, Oxetane können auch durch einen photoinduzierten Elektronentransfer (PET) gebildet werden. Dieser Mechanismus steht im Widerspruch zu den vorig beschriebenen elektrophilen und nukleophilen Prozessen.

Beim PET kommt es zur Übertragung eines Elektrons des  $\pi$ -Elektronensystems des Olefins auf die angeregte Carbonylgruppe. Das dadurch entstehende 1,4-Zwitterion reagiert anschließend zu dem Oxetan. Bei diesem Prozess kann die Reaktion sowohl aus dem Singulettzustand, als auch aus dem Triplettzustand stattfinden (Abb. 3.71).



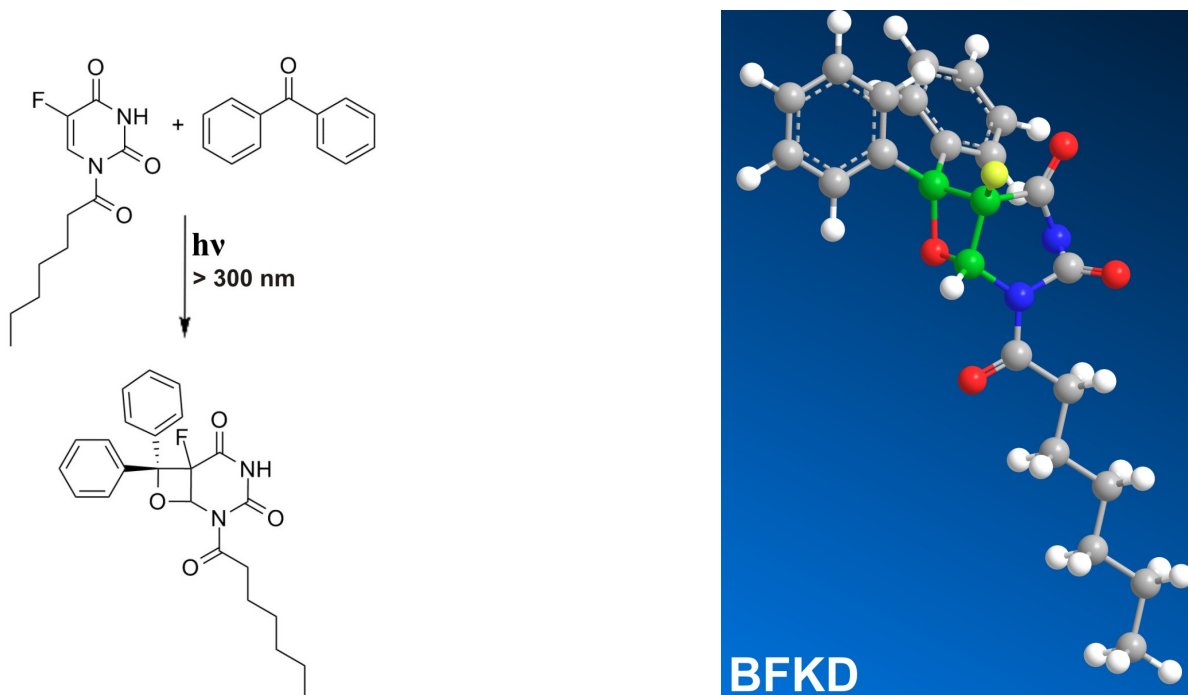
**Abbildung 3.71:** Oxetanbildung erfolgt über photoinduzierten Elektronentransfer.

Für diesen Reaktionsverlauf ist weniger die Molekülgeometrie verantwortlich, sondern die Redoxaffinität der einzelnen Substrate. Dies bedeutet wiederum für die Reaktion eines elektronenarmen Olefinsystems mit einer Carbonylkomponente, dass hierbei ausschließlich der radikalische Reaktionsweg erfolgt.

Betrachtet man hingegen elektronenreiche Olefine und findet die Reaktion in Anwesenheit polarer Lösungsmittel statt wie Acetonitril und Chloroform, ist es möglich, dass die Oxetanbildung nach Paternò-Büchi bevorzugt über PET stattfindet. Hierbei ist die Polarität des eingesetzten Lösungsmittels entscheidend für die Stabilisierung des Zwitterions und somit die Weiterreaktion zur Bildung des Oxetans.

### 3.15 Konfiguration des Benzophenon-H5FU-Kreuzdimers (BFKD)

Durch die beiden Phenylreste am Benzophenon war es schwierig über 2D-NMR Spektroskopie die absolute Konfiguration zu analysieren, d.h. ob die Gruppen syn oder anti zueinander stehen. Allerdings konnte anhand der Spektren wie in Kapitel 4.7 dargestellt festgestellt werden, dass das Sauerstoffatom des Oxetans zum Fluorid des H5FUs anti steht und die beiden Ringsysteme in trans-Stellung zum Oxetan stehen (siehe Abb. 3.72).



**Abbildung 3.72:** Konfiguration des BFKD (rot: Sauerstoff, grau: Kohlenstoff, weiß: Wasserstoff, grün: Cyclobutanring, dunkelblau: Stickstoff, gelb: Fluor).

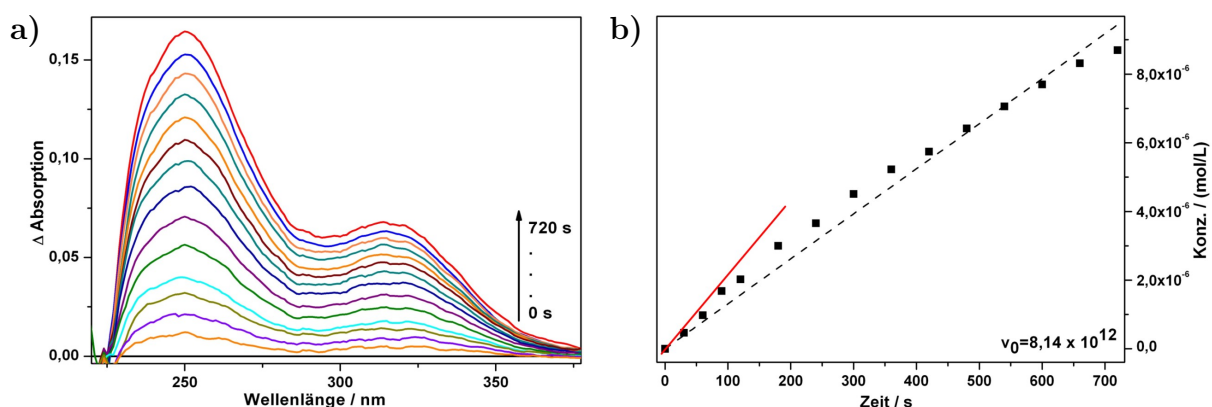


### 3.16 Photochemische Eigenschaften des Benzophenon-H5FU-Kreuzdimers (BFKD)

Die photochemisch induzierte Oxetanbildung von Benzophenon wurde bereits von Paternò und Chieffi, 1910 beschrieben [191]. Ferner wurden Paternò-Büchi Reaktionen zwischen Pyrimidinbasen und Benzophenon beschrieben [192]. Allerdings ist nicht näher beschrieben worden, wie sich diese Oxetan-Strukturen bei Ein- oder Zwei-Photonenprozessen verhalten und diese zur [2+2]-Cycloreversion fähig sind.

Dies sollte anhand der folgend dargestellten SPA- und TPA-Experimente demonstriert werden. Wie in Kapitel 1.5 und 4.4.1 erläutert wurden die SPA-Experimente nach folgenden Anweisungen in Acetonitril durchgeführt. Es wurde eine Konzentration des Kreuzdimers von  $0,21 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  in 2 mL Acetonitril gewählt.

Für die Berechnung der freigesetzten Benzophenon-Konzentration (BFKD) wurde die Extinktion bei 333 nm gewählt ( $\epsilon_{333\text{nm}} = 9.836,87 \frac{\text{L}}{\text{mol} \times \text{cm}}$ ), da der Wirkstoff in diesem Bereich keine nennenswerte Absorption zeigt und somit die Konzentrationsberechnungen nicht beeinflusst.

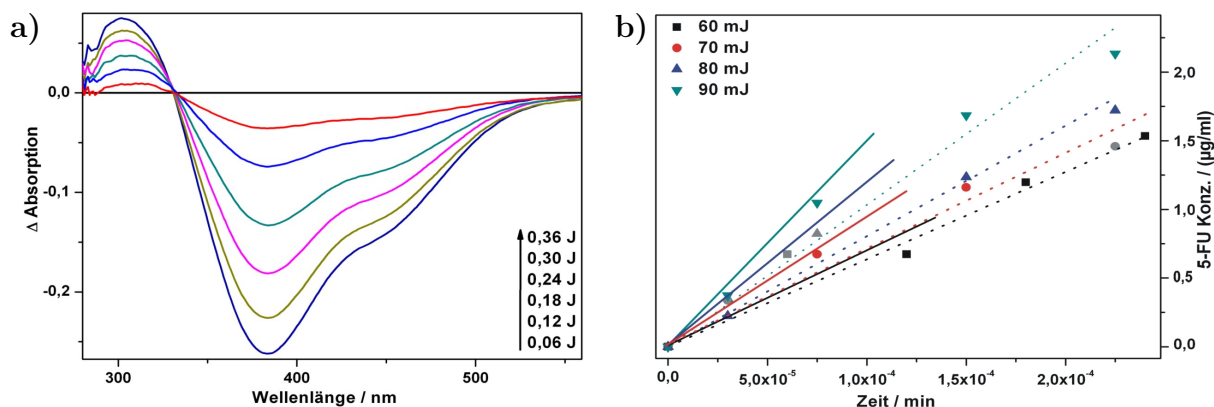


**Abbildung 3.73:** Ein-Photonen-Absorption induzierte [2+2]-Cycloreversion von BFKD dargestellt durch: a) UV-Differenzspektren und b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  aus der Steigung der Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit.

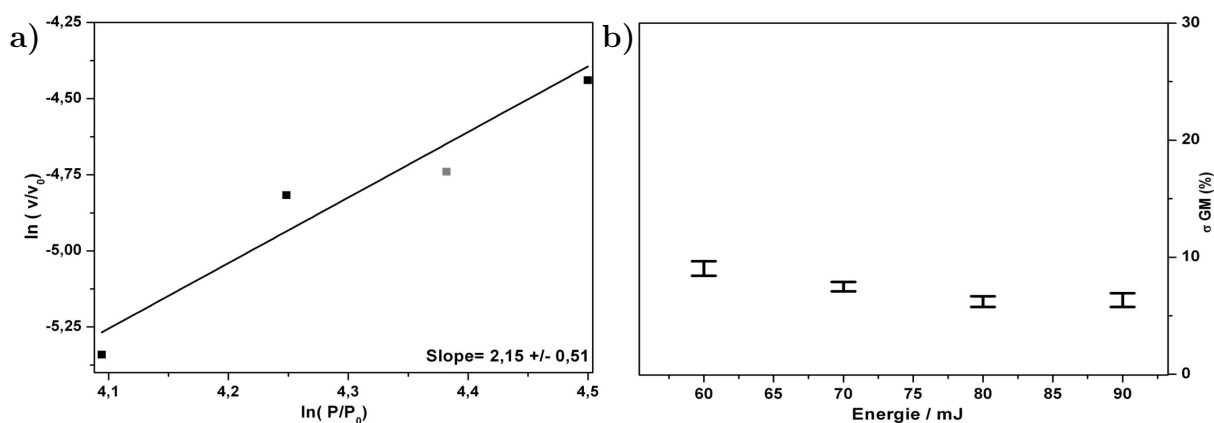
Die Anfangsgeschwindigkeit betrug  $v_0 = 8,14 \times 10^{12}$  Moleküle/s, die SPA-Quantenausbeute lag bei  $\varphi_{266\text{nm}}^{\text{SPA}} = 0,0287$  (Abb. 3.73).

Die TPA-Experimente wurden für die vier Energien: 50 mJ, 60 mJ, 70 mJ und 80 mJ,

wie in Kapitel 1.5 beschrieben durchgeführt (Abb. 3.74). Für das Experiment wurde eine Konzentration des Kreuzdimers von  $2,1 \text{ mmol} \times \text{L}^{-1}$  in Acetonitril gewählt (Abb. 3.74).



**Abbildung 3.74:** a) UV/Vis-Differenzspektren welche nach jeweiligem Bestrahlungsintervall aufgenommen wurde. b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit der eingestrahnten Energie.



**Abbildung 3.75:** a) Doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  gegen die Pulsleistungen. b) Relative Abweichung der Goeppert-Meyer Werte in Abhängigkeit zur Energie.

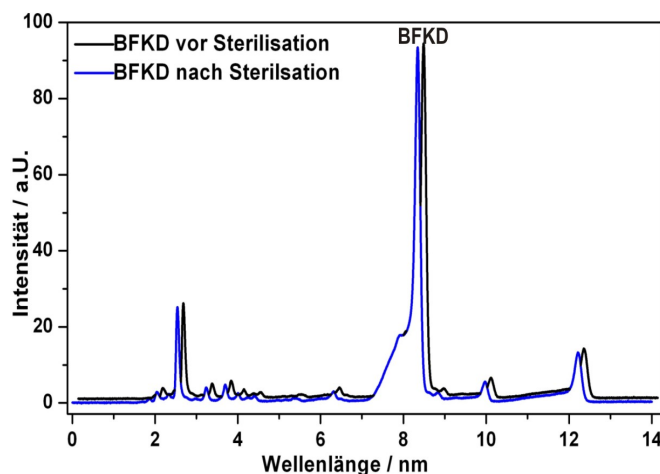
Aus den ermittelten Werten konnte eine doppeltlogarithmische Auftragung (Abb. 3.75) erzeugt werden, die als Steigung den Wert  $2,15 \pm 0,51$  ergab und folgt daher einer Zwei-Photonen induzierten [2+2]-Cycloreversion (Abb. 3.75).

Mit diesen Experimenten konnte gezeigt werden, dass das Oxetan, welches durch eine photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition gebildet wurde, auch zur [2+2]-Cycloreversion durch Ein-Photonen- und Zwei-Photonen-Absorption fähig war. Um auszuschließen, dass

die [2+2]-Cycloreversion auch thermisch erfolgt, wurde das Kreuzdimer nach beschriebener Vorschrift (Kapitel 4.2.8) bei 121 °C autoklaviert.

Vor und nach dem Sterilisationsprozess wurde eine HPLC-Messung durchgeführt, als Elutionsgemisch wurde ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) verwendet (Abb. 3.76).

Anhand dieser Messung ist deutlich zu erkennen, dass das Kreuzdimer thermisch stabil ist, da sich weder eine Abnahme der Peakfläche des Hauptpeaks bei 8,41 min, noch eine Häufung zusätzlicher Peaks bei dieser Messung zeigte.



**Abbildung 3.76:** HPLC-Messung vor und nach dem Sterilisationsprozess.

Anhand dieser Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass der Photosensibilisator Benzophenon, der eigentlich zur Stabilisierung des Triplettzustands während der [2+2]-Cycloaddition dient, selbst in eine gemischte [2+2]-photoinduzierte Cycloaddition mit dem Wirkstoff H5FU eingeht. Diese daraus resultierende Verbindung kann sowohl durch Ein-, als auch Zwei-Photonen-Prozesse wieder gespalten werden.

Um zu verhindern, dass aus der eigentlichen [2+2]-Cycloaddition nach Woodward-Hoffmann der Wirkstoff entzogen und der eigentliche Photosensibilisator selbst zur Reaktion nach Paternò-Büchi aufgebraucht wird, ist es für zukünftige Versuche notwendig andere Photosensibilisatoren wie z.B. Biphenyl, Phenazin oder Carbazol zu wählen [40].

Diese Systeme müssen vorab erprobt werden, dennoch könnte dadurch eine verbesserte Ausbeute bei der Synthese mit einem Rayonet-Reaktor erzielt werden.

### 3.17 Tranilast - alternativer Wirkstoff zur Behandlung des sekundären Katarakts

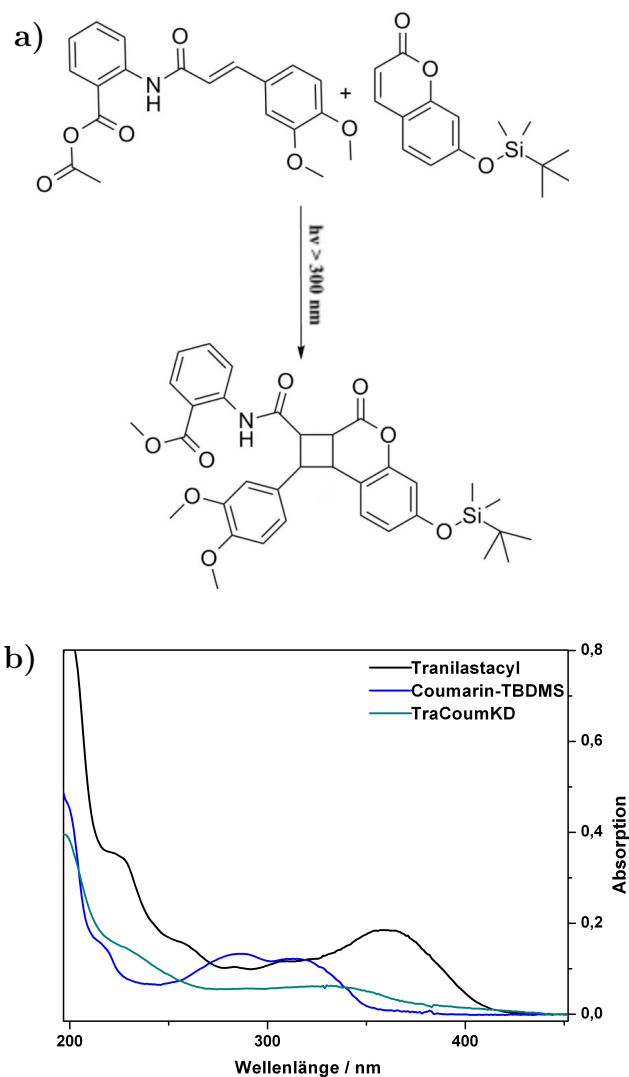
Bisher wurde für die funktionalisierten Polymere 5-FU als zytotoxisch wirksamer Wirkstoff angewandt. 5-FU hat den Nachteil, dass es nicht nur auf hochproliferative Zellen apoptotisch wirkt, sondern auch gesundes Gewebe irreversibel angreifen kann. Dies kann z.B. negative Auswirkungen auf die Cornea haben, sofern 5-FU vom Inneren des Kapselsacks bis zur Cornea diffundiert.

Aufgrund dessen wurde nach einem vergleichbaren Ersatz gesucht, der zum einen antiproliferativ wirkt und zum anderen keine negativen Auswirkungen auf das gesunde angrenzende Gewebe aufweist. Es sind einige Wirkstoffe wie z.B. Dorzolamid, Ibuprofen oder Mitomycin C zur Behandlung von PCO erprobt <sup>[193–195]</sup>. Allerdings kann keine photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition an ihnen durchgeführt werden. Aufgrund dessen war es notwendig einen Wirkstoff zu finden, der zum einen gute antiproliferative Eigenschaften, mit wenigen Nebenwirkungen und zum anderen in der Grundstruktur eine freie Doppelbindung aufweist, die die notwendige Photoreaktion ermöglicht.

Basierend auf diesen Studien wurde eine Wirkstoff-Linker Kombination gewählt, die es ermöglichte, über die [2+2]-Cycloaddition Tranilast als Wirkstoff reversibel an einem Linker zu binden. Für die erste Testreihe wurde zunächst Coumarin als Linker gewählt, da Tranilast eine freie Doppelbindung aufweist und eventuell wie Chalkon zur photoinduzierten E/Z-Isomersierung neigt <sup>[196,197]</sup>.

### 3.17.1 Tranilast - Coumarin-Kreuzdimer (TraCoup-KD)

Wie schon in Kapitel 1.5 beschrieben ändert sich bedingt durch die [2+2]-Cycloaditionsreaktion das Absorptionsmaximum des daraus resultierenden Dimers. Wie in Abb. 3.77 gezeigt, hat sowohl 7-tert-Butyldimethylsilyloxy-coumarin (Coum-OTBS) drei (218 nm, 283 nm, 318 nm) als auch Tranilastacyl drei Absorptionsmaxima bei (225 nm, 260 nm, 361 nm).



**Abbildung 3.77:** a) Schematische Darstellung der [2+2]-Cycloaditionsreaktion. b) UV/Vispektren der einzelnen Komponenten und des entstehenden TraCoupKD.

Durch die [2+2]-Cycloaddition bildet sich eine Cyclobutanring-Struktur zwischen dem

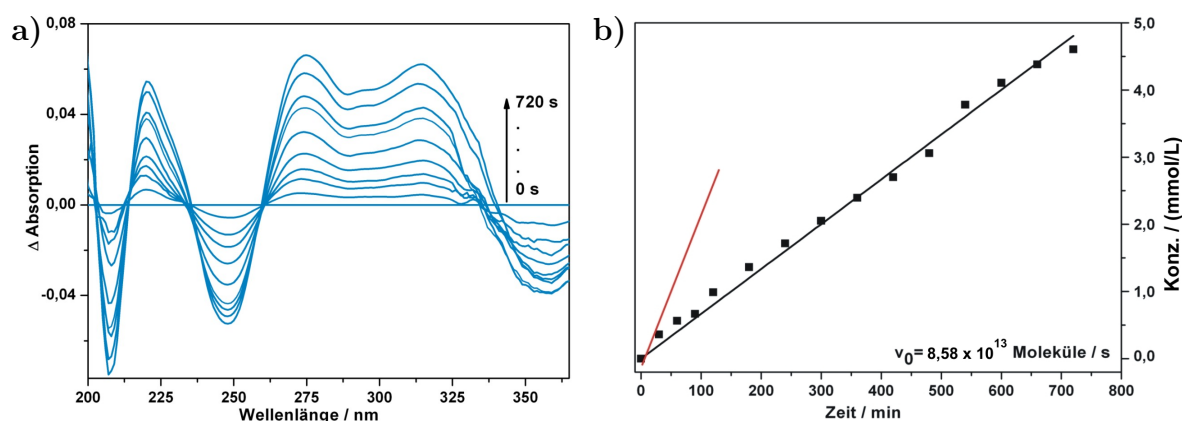
konjugierten System von Tranilastacyl und COUM-OTBS aus. Dadurch wird das Absorptionsmaximum im Bereich von 280-360 nm sowohl von COUM-OTBS als auch von Tranilastacyl eliminiert (Abb. 3.77 b).

### 3.17.2 SPA- und TPA-induzierte [2+2]-Cycloreversion der TraCoun-KD

Wie in Kapitel 1.5 und 4.4 beschrieben, wurden die SPA- und TPA-Experimente nach folgenden Anweisungen in Acetonitril durchgeführt.

Für die Bestimmung der Ein-Photonen-Quantenausbeute wurde eine Konzentration von  $1,98 \text{ mmol L}^{-1}$  CFKD gewählt. Zur Bestimmung der Spaltungsgeschwindigkeit  $v_0$  wurde die Absorption bei 314 nm gewählt.

Dies entspricht dem Absorptionsmaximum von Tranilastacyl, um die genaue freigesetzte Konzentration ohne Überlagerung von freigesetzten Wirkstoff Tranilast zu gewährleisten. Zur Konzentrationsbestimmung wurde der Extinktionskoeffizient von Tranilastacyl in Acetonitril bei 214 nm bestimmt. Dieser beträgt  $14.659,38 \pm 14,28 \frac{\text{L}}{\text{mol} \times \text{cm}}$ .



**Abbildung 3.78:** a) UV-Differenzspektren von CFKD in bestimmten Zeitintervallen aufgenommen. b) Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  aus der Steigung der Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit.

Wie in Abb. 3.78 dargestellt wurde für das SPA-Experiment anhand von TraCoun-KD eine Anfangsgeschwindigkeit von  $8,58 \times 10^{13}$  Moleküle/s ermittelt.

Die Quantenausbeute ist mit  $\varphi_{266\text{nm}}^{\text{SPA}} = 0,108$  deutlich höher und weist somit im Vergleich zu den H5FU-Chalkon Kreuzdimeren einen signifikant höheren Wert auf (Kapitel 3.11).

Im Vergleich zu den Coumarin-H5FU Kreuzdimeren zeigt es eine ähnliche Quantenausbeute <sup>[123]</sup>.

Aufgrund der technischen Begebenheiten waren Zwei-Photonen-Absorptions-Messungen nicht möglich. Durch weitere Experimente an diesem Kreuzdimer, wie TPA- induzierte Spaltung und die Copolymerisation an HEMA/PMMA, könnte ein vollkommen neues funktionalisiertes Polymer entwickelt werden. Anhand dieses Polymers könnten Zelltests an LEC-Zelllinien durchgeführt werden, um die antiproliferative Wirksamkeit positiv bestätigen zu können.

## 4 Materialien und Methoden

In diesem Kapitel werden die experimentellen Details beschrieben, die die Reproduktion der in Kapitel 3 vorgestellten Ergebnisse ermöglichen.

### 4.1 Chemikalien

Die im folgenden Abschnitt aufgeführten Chemikalien wurden sofern im Kapitel 4.5 nichts anderes angegeben, von folgenden Firmen bezogen und in der gelieferten Qualität eingesetzt:

- Acros Organics (Geel, Belgium):
  - Methanol 99,8 % HPLC Grade
  - Dimethylsulfoxid extra dry 99,8 % HPLC Grade
  - Dichlormethan extra dry 99,8 %
  - Tetrahydrofuran extra dry 99,9 %
  - Isopropanol HPLC Grade
- Fisher Scientific GmbH ( Schwerte, Deutschland):
  - Triethylamin 99 % pure
- Fluorochem (derbyshire, United Kingdom):
  - Tert-Butyldimethylsilylchloride 97 % reagent grade
- Merck KgaA (Darmstadt, Deutschland):
  - N'-N-4-Ethyl-Dicyclohexylcarbodiimid
  - N'-N'-Dicyclohexylcarbodiimid 99 %
- Sigma Aldrich (Taufkirchen, Deutschland):
  - Dimethylaminopyridine 99 %
  - Acetonitril Chromasolv ® Plus for HPLC, 99,9 %



- Benzylbromid 98 % reagent grade
- Chinin 98,0 % (dried material, NT)
- Rhodamin B 95,0 % (dried material, NT)
- Natriumhydrid 95,0 % dry
- Imidazol 99,0 %
- Benzophenon 99,0 % (Fisher scientific)
- 1,6- Dihydroxynaphtalin 99,0 %
- Kaliumnitrosodisulfonat (Fremys´ s Salz)
- Methacrylsäure contains 250 ppm MeHQ as Inhibitor
- Chloroform Chromasolv ® Plus for HPLC, 99,9 %
- Acetylchlorid 99,0 %

Chemikalien die in dieser Liste nicht aufgeführt sind, wurden aus der Chemikalienausgabe des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg bezogen. Die Lösungsmittel wurden vor Gebrauch am Rotationsverdampfer gereinigt und sofern nötig, nach Standardverfahren getrocknet <sup>[198]</sup>. Die für die NMR-Messungen verwendeten deuterierten Lösungsmittel wurden gleichfalls von der Chemikalienausgabe bezogen.

- Acetonitril-d6 99,99 atom
- Chloroform-d 99,8 atom
- Dimethylsulfoxid-d6 99,0 atom

Entionisiertes Wasser, welches für Synthesen und sowohl für die HPLC als auch präparativen HPLC verwendet wurde, wurde aus der Wasseraufbereitungsanlage durch reverse Osmose der Firma *TKA* Wasseraufbereitungssystem (Leitfähigkeit=0,065  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) erhalten.

## 4.2 Analytik

### 4.2.1 Kernspinresonanzspektroskopie

Die Kernspinresonanzspektroskopie-Messungen (NMR) wurden in der NMR-Abteilung des Fachbereichs Chemie an der Philipps-Universität Marburg durchgeführt.

300 MHz-Standardmessungen wie  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$  wurden an einem FT-Kernresonanzspektrometer des Typs *Avance 300 II* der Firma Bruker aufgenommen, welches mit einem Dual  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  Probenkopf ausgestattet ist.

Die  $^{19}\text{F}$  Messungen wurden an dem Gerätetyp *Avance II 300 MHz* (Bruker), welches mit einem BBOF Probenkopf bestückt ist, aufgenommen. Die  $^{13}\text{C}$ -Spektren wurden Breitband gekoppelt gemessen.

Messungen die durch Handbetrieb erfolgten, wurden an den jeweiligen Geräten *Avance DRX – 500* (Bruker), mit denen  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -, TOCSY-, HMBC- und HSQC- Spektren aufgenommen.

### 4.2.2 HPLC-Chromatographie

Die meisten Reaktionskontrollen der [2+2]-Cycloadditionsreaktionen via Rayonet-Reaktor oder Avia erfolgten über eine High Performance Liquid Chromatography (HPLC) vom Typ *Ultimate 3000 System* der Firma Dionex. Das System war ausgestattet mit zwei *Pronto SIL RP – C18* Säulen (5,0  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  4 mm, Bischoff Chromatography). Eine Säule wurde für den Betrieb mit Acetonitril und die andere mit Methanol genutzt. Des Weiteren verfügt das Gerät über einen Autosampler, einen Ofen der die Säulen auf 40°C heizt und einen internen Dioden Array Detector (DAD). Als Eluenten wurden jeweils Acetonitril oder Methanol (99,0 % HPLC Grade) und entionisiertes Wasser verwendet, das 0,1 % konz.  $\text{H}_3\text{PO}_4$  enthielt. Das System der Dionex wurde sowohl für isokratische Läufe als auch für Gradienten verwendet.

Die Probe konnte abhängig von ihrer Konzentration mit 1  $\mu\text{L}$  - 20  $\mu\text{L}$  in die Proben-schleife injiziert werden. Meist wurde ein isokratisches Laufmittelgemisch bevorzugt, um ein homogenes Eluieren der einzelnen Moleküle zu garantieren. Präferiert wurde meist eine Mischung bestehend aus 75/25 oder 80/20 Acetonitril zu Wasser.

Für erste Reaktionskontrollen einer unbekannten Photoreaktion, in der Homodimere entstanden sein könnten, wurde ein Gradient 82/18 - 95/5 (ACN/ $\text{H}_2\text{O}$ ) gewählt um zu gewährleisten dass die Homodimere in einer adäquaten Zeit eluieren.

Die Flussrate wird dabei dem Lösungsmittelanteil angepasst und variierte zwischen 0,500

$\text{mL} \times \text{min}^{-1}$  -  $0,600 \text{ mL} \times \text{min}^{-1}$ . Abhängig von dem Lösungsmittelanteil kann der Druck zwischen 163 - 200 bar variieren.

Mit Hilfe des DAD-Detektors können die unterschiedlichen Peaks bei unterschiedlichen Wellenlängen identifiziert werden (220 nm, 260 nm, 280 nm, 320 nm und 312 nm). Für die Standardauswertung wurde der Wellenlängenbereich bei 220 nm ausgewählt.

Mittels der 3D-Field-Analyse konnten über ein 3D-Spektrum alle Wellenlängenbereiche betrachtet werden und der mit der maximalen Absorption in diesem Bereich gewählt werden.

Um den Fortschritt einer Reaktion zu quantifizieren, war es möglich durch Referenzstandards über die jeweilige Peakfläche die Ausbeute einer Substanz zu quantifizieren.

### 4.2.3 Massenspektrometrie

Alle Massenspektren wurden mittels LCMS (liquid chromatography mass spectroscopy) Messungen durchgeführt. Dafür wurde das Gerät ESI/MS LCQ Duo Massenspektrometer der Firma Thermoelectron verwendet, dem eine HPLC des Typs 1050 der Firma Agilent Technologies vorgeschaltet ist. Als Laufmittel wurde Acetonitril/Wasser (angesäuert mit 0,3 % konz. Ameisensäure) verwendet. Die Zusammensetzung war abhängig von den zu untersuchenden Molekülen.

### 4.2.4 UV/VIS-Spektroskopie

Die UV/Vis-Spektren wurden an einem *Lambda* 35 Spektrometer der Firma Perkin-Elmer bei Raumtemperatur in 2- oder 4-Fenster-Quarzglasküvetten der Firma Hellma ( $d=1,0 \text{ cm}$ ) durchgeführt.

SPA-Reaktionen wurden über UV/Vis-Spektroskopie, im Spektralbereich von 800 nm bis 190 nm verfolgt. Die Scan-Geschwindigkeit betrug  $960 \text{ nm} \times \text{min}^{-1}$  und die Aufnahme erfolgte in 1 nm Schritten.

Die UV/Vis Spektren der TPA-Reaktionen wurden in Heidelberg (AG Prof. Dr. Motzkus) an einem Gerät der Firma Shimadzu des Typs *UV* – 1800 durchgeführt. Dabei wurde der Wellenlängenbereich von 190 nm - 800 nm gewählt, die Scangeschwindigkeit betrug  $480 \text{ nm} \times \text{min}^{-1}$  und die Messung erfolgte in 1 nm Schritten. Für die TPA-Reaktionen an den Polymeren wurden diese in speziell angefertigte Halterungen aus POM (Polyoxymethylen) in einer 4-Fenster-Quarzglasküvette fixiert und mit 0,9 % iger Kochsalzlösung befüllt.

Die Messung der Polymere wurde an einem UV/Vis *Lambda* 1050 der Firma Perkin-

Elmer durchgeführt und in die dafür entsprechende Halterung fixiert und gegen Luft gemessen.

Als Grundeinstellung für diese Messung wurde eine doppelte Nulllinie gegen Luft im Bereich zwischen 800 nm - 200 nm und mit einer Scangeschwindigkeit von  $480 \text{ nm} \times \text{min}^{-1}$  gemessen. Die Messungen erfolgten in 0,1 nm Schritten.

#### 4.2.5 Fluoreszenzspektroskopie

Fluoreszenzspektren wurden an dem Shimadzu *RF* – 1502 Spectrometer bei Raumtemperatur durchgeführt.

Für die Messungen wurden 4-Fensterquarzglasküvetten der Firma Hellma verwendet.

#### 4.2.6 Visuelle Darstellung der Freisetzung aus TCKD funktionalisiertem Polymer

Um die Diffusion des Fluoreszenzfarbstoff BCA visuell darzustellen, wurde nach der Bestrahlung mit dem *Infinity* bei 532 nm Bilder mit einer Kamera des Typs CCD Camera (*C47442 – 95 – 12NR*, Hamamatsu, Japan) angefertigt. Durch die hohe Auflösung von  $1024 \times 4024$  Pixeln war es möglich die Diffusion des Farbstoffs aus dem Polymer präzise darzustellen. Während der Freisetzung wurde die Lösung durch eine LED ( $\lambda_{max} = 365 \text{ nm}$ ), die unterhalb der Küvettenhalterung angebracht war bestrahlt, um die Fluoreszenz zu visualisieren.

#### 4.2.7 CHN-Analyse

Die Elementaranalyse von Tranilastacyl wurde in der CHN-Analytik des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg an dem Gerät CHN(S)-Analysator Vario Micro Cube der Firma elementar durchgeführt.

#### 4.2.8 Sterilisationsverfahren

Um die thermische Stabilität der Homo- und Kreuzdimere zu prüfen, wurde in einem weiteren Test diese als Reinsubstanz in einem HPLC-Vial mit Septum autoklaviert. Hierfür wurde ein Autoklav der Firma Tuttnauer des Typs 3850 EL-D verwendet. Dabei wurden die Proben auf  $120 \text{ }^{\circ}\text{C}$  bei 2,13 bar erhitzt und für weitere 30 Minuten temperiert. Gleichfalls wurden die Polymerproben inkubiert. Allerdings wurden diese dabei in einem

autoklavierfähigen Gefäß mit entionisiertem Wasser sterilisiert. Für beide Materialien wurden die in 4.1 zusammengefassten Parameter gewählt.

Zeit	Temp./°C	Druck / bar
0	25	0,00
10	110	1,70
20	120	2,03
40	120	2,04
50	120	2,03
60	110	1,80
80	95	1,60
100	85	1,40
120	50	0,30

**Tabelle 4.1:** Temperaturprofil zu Sterilisation von Polymeren bzw. thermischer Stabilitätstest von Reinsubstanzen.

## 4.3 Reinigungsmethoden

### 4.3.1 Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Aluminiumplatten der Firma Merck KGaA *TLC Silica Gel 60F* verwendet.

Die Aluminiumstreifen wurden auf die entsprechende Größe zugeschnitten, um zum einen vor der Trennung das geeignete Laufmittel für die Säulenchromatographie zu identifizieren und zum anderen die einzelnen Fraktionen zu untersuchen. Wobei das gesuchte Molekül anhand von UV-Licht bei 254 nm oder 366 nm detektiert wurde.

### 4.3.2 Präparative HPLC

Die Reinigung der photochemisch empfindlichen Substanzen wurde mit Hilfe einer präparativen HPLC durchgeführt. Hierfür wurde eine präparative Reversed-Phase-HPLC (RP-HPLC) verwendet, die sich aus einer Pumpe *P680* und einem Absorptionsdetektor vom TYP *AD 25* der Firma Dionex zusammensetzt. Für die Reinigung wurde eine Säule von YMC verwendet (*YMC – Pack, ODS – A column*, 250 mm × 30 mm, 5 µm, *C18*). Als Laufmittel wurde ausschließlich Acetonitril und entionisiertes Wasser,

was mit konzentrierter  $\text{H}_3\text{PO}_4$  angesäuert wurde (0,3 % Säure). Die Laufmittelzusammensetzung war abhängig von den zu trennenden Substanzen und variierte von 50/50 - 80/20 ACN/ $\text{H}_2\text{O}$ .

## 4.4 Lichtquellen für die Photoreaktionen

### 4.4.1 Rayonet-Reaktor

Für die [2+2]-Cycloaddition- und Paternò-Büchi-Reaktion, wurde eine Lichtquelle verwendet, die die benötigte UV-Strahlung in dem gewünschten Wellenlängenbereich, mit geeignet hoher Intensität emittiert.

Der dafür verwendete Rayonet-Reaktor wurde in den elektronischen und feinmechanischen Werkstätten des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg konstruiert.

Der Reaktor setzt sich aus einer Metallbox zusammen, die mit einer internen Lüftung versehen ist. An jeder Wand sind vier UV-Leuchtstoffröhren angebracht. Die Betriebstemperatur lag zwischen 32,5 - 35,0 °C. Es wurden Lampen der Firma Philipps verwendet (*Bodytone, Isolde 40W – R35*). Das Reaktionsgemisch, wurde in verschließbare Reagenzgläser, die für die Strahlung der Wellenlänge <320 nm durchlässig sind, gefüllt. Während der gesamten Bestrahlungsdauer wurde die Reaktion mit einem Magnetrührer gerührt.

### 4.4.2 UV-Leuchtdiode (UV-LED)

Die SPA-Spaltungsreaktionen wurden durch eine LED des Typs *UV – LUX 260* der Firma Lux durchgeführt.

Um die Quantenausbeute  $\phi$  der Spaltungsreaktionen von HD und KD zu berechnen, muss die von der Strahlungsquelle emittierte Photonenzahl bekannt sein.

Diese wurde durch zwei Methoden bestimmt: **i)** Durch die Aktinometrie von Azobenzol und **ii)** mit Hilfe einer Photodiode vom Typ 1337 – 101BQ der Firma Hamamatsu. Zur aktinometrischen Messung wurde die E/Z-Photoisomerisierung von Azobenzol <sup>[40]</sup> verwendet.

Dabei wird die E/Z-Isomerisierung im spektralen Bereich von 230-480 nm bei bekannter Quantenausbeute ausgenutzt. Der Reaktionsverlauf wird anhand der Absorptionsänderung bei 316 nm verfolgt, bis der sogenannte photostationäre Zustand erreicht wird, in dem die Umlagerung von E nach Z gleichschnell stattfindet und somit keine Änderung

der Absorption in diesem Bereich festgestellt werden kann.

Die bis zum stationären Zustand benötigte Zeit wird zur Berechnung der Photonenzahl verwendet. Die Aktinometrie als Messmethode ist im Vergleich zur Messung mit der Photodiode genauer aber zeitaufwändiger, da vor jeder Spaltungsreaktion diese Messung durchgeführt werden muss, um genaue Werte zu erhalten. Daher wurde über die Aktinometrie ein Korrekturfaktor der Photodiode bestimmt. Dieser lag bei 1,11.

### 4.4.3 Laser-Systeme

Für die Laser-induzierten Photoreaktionen wurden zwei Laser-Systeme als Bestrahlungsquellen verwendet.

Für die Zwei-Photonen-Absorptionsexperimente (TPA) bei 532 nm wurde ein frequenzverdoppelter *Infinity 40 – 100 Nd : YAG – Laser* (Neodinium Doped Yttrium Aluminium Garnet) der Firma Coherent verwendet.

Bei einer Wellenlänge von 532 nm können maximale Pulsfrequenzen von 100 Hz bis zu einer Pulsenergie von 200 mJ bei Pulslängen von 3 ns erreicht werden. Der Beamdurchmesser betrug 5,5 mm. Das Reaktionsgemisch wurde während der gesamten Bestrahlungsdauer gerührt. Die Kreuz- und Homodimer Reinsubstanzen wurden in Lösung gemessen, wobei Acetonitril als Lösungsmittel verwendet wurde.

Die Polymere wurden wie bei den SPA-Spaltungsreaktionen (Kapitel 1.5) fixiert und mit 0,9% iger NaCl-Lösung versetzt. Die Energie wurde mit einem Lasermesskopf vom Typ *Power Meter Head Model 80V* und dem dazu gehörenden *Fieldmaster GS* der Firma Coherent unmittelbar vor und nach der Messung bestimmt.

Die [2+2]-Cycloadditionsreaktion wurde durch einen hochfrequenten Puls laser des Typs *Avia 355 – 7* (Coherent-Inc.), einem Dioden-gepumpten, q-switched Nd:YAG-Laser mit einer Pulslänge von 25 ns durchgeführt. Für die Reaktion wurde mit einer Repetitionsrate von 10 kHz und einer Pulslänge von 260  $\mu$ J gearbeitet. Der Strahldurchmesser konnte durch entsprechende Optiken zwischen 1 cm und 1,5 cm variieren. Die Reaktion fand entweder in einer Mikroküvette bzw. in einer 2- oder 4-Fensterquartzglasküvette der Firma Hellma, des Typs *QS* (d=1,0 cm), statt.

Die Synthese mit Hilfe des Avia-Lasers wurde nur für Linkersysteme verwendet, die bei einer Bestrahlungswellenlänge von 355 nm eine ausgeprägte Absorption zeigten, um für die [2+2]-Cycloadditionsreaktion ausreichend angeregt zu werden.

#### 4.4.4 Lichtechtheitstest (Suntest)

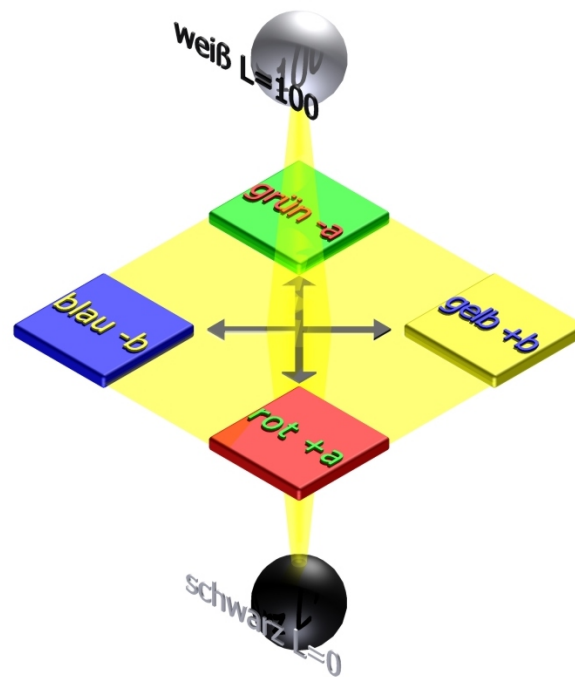
Für die Messung der Lichtechtheit wurde die Farbe eines Polymerstücks (1,0 cm × 1,0 cm) bestimmt.

Hierfür wurde ein Messgerät des Typs Colour-Guide 45°C/6°C der Firma BYK-Gardner GmbH verwendet.

Das Polymerstück wurde in einer Halterung fixiert, die aus weißem Polyoxymethacrylat (POM) bestand (hergestellt durch die Feinmechanik Werkstatt des Fachbereichs Chemie) planar fixiert um Reflektionen während der Messung und dadurch Messfehler zu verhindern. Die Messung der Lichtechtheit wurde dreimal bei gleichen Lichtverhältnissen durchgeführt.

Die Auswertung der daraus resultierenden Messergebnisse wurde über das CIELAB-System  $L^* \times a^* \times b^*$  durchgeführt [199].

Wie in Abb. 4.1 gezeigt, werden die Farben durch drei Parameter bestimmt: die Helligkeit  $L^*$ , den rot/grün-Anteil  $a^*$  und gelb/blau  $b^*$ .



**Abbildung 4.1:** Schematischer Aufbau des CIELAB-Farbraums.

Wie in Abb. 4.1 zu entnehmen reichen die Werte für  $L^*$  von 0 (schwarz, vollständige Absorption) bis 100 (weiß, vollständige Reflektion), die Werte für  $a^*$  reichen von -150



(grün) bis 100 (rot) und für  $b^*$  gilt -100 (blau) bis einschließlich 150 (gelb).

Die Bestrahlung der Polymerprobe wurde durch einen Suntester des Typs *XLS+* der Firma Atlas durchgeführt. Dieser ist mit einer Xenonlampe (Xenonstrahler NXE 2201) ausgestattet.

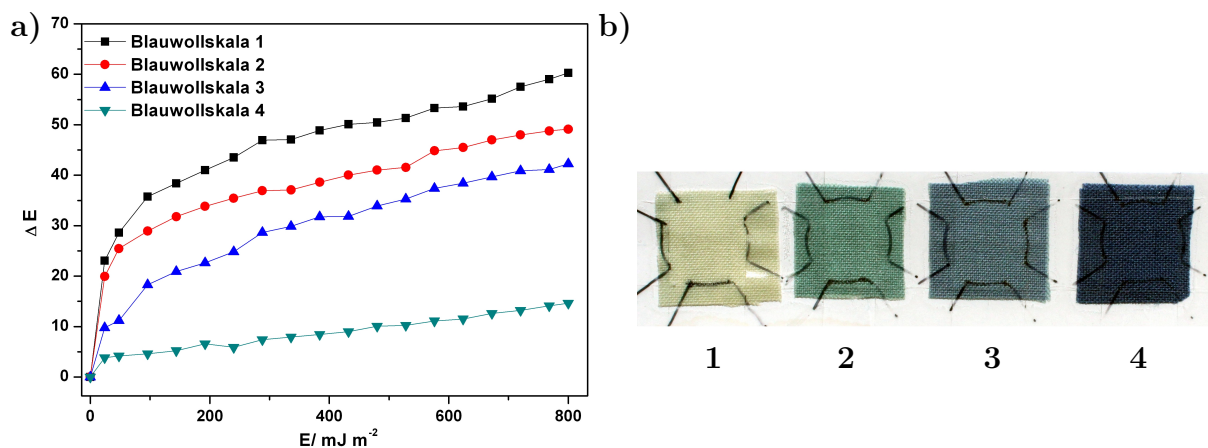
Für die Messung wurde ein Filter des Typs F verwendet, um Strahlung unterhalb von 320 nm zu filtern. Die Probe wurde 800 h mit einer Energiedichte von 250 W/m<sup>2</sup> (250 kJ/m<sup>2</sup>) bestrahlt. Hierbei wurde dieser Test sowohl mit hydratisiertem (in 0,9 % NaCl), als auch mit dehydratisiertem Polymer durchgeführt. Die Messung der Farbwerte wurde nur mit dehydratisiertem Polymer durchgeführt, da durch das aufgenommene Wasser im Polymer die Messwerte verfälscht werden.

Die Farbwerte wurden jeden zweiten Tag mit dem Color-Guide bestimmt. Während der Bestrahlung herrschte in der Belichtungskammer eine gleichbleibende Temperatur von 35 °C. Die Änderung  $\Delta E$  der Farbe des Polymers wird durch folgende Gleichung 4.1 bestimmt:

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L_n^*)^2 + (a_0^* - a_n^*)^2 + (b_0^* - b_n^*)^2} \quad (4.1)$$

0=Messung vor der Bestrahlung

n=Messung nach Bestrahlungszeit x



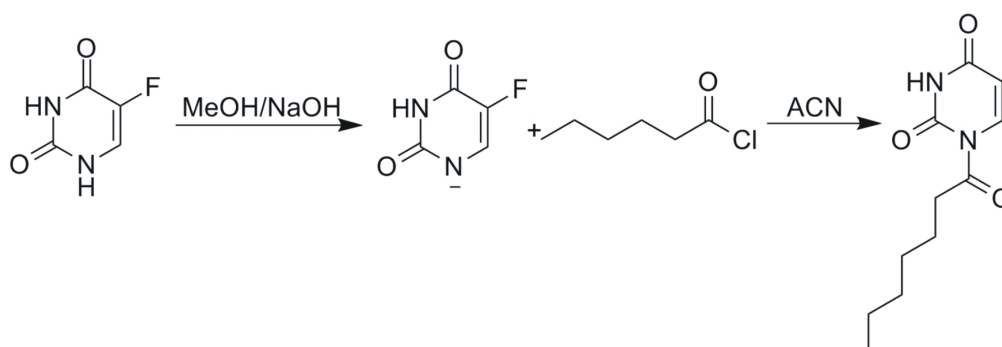
**Abbildung 4.2:**  $\Delta E$ -Werte der einzelnen Blauwollteststreifen in Abhängigkeit zur eingestrahlten Lichtintensität. b) Blauwollteststreifen nach 800 h Bestrahlung durch den Suntester.

Eine Änderung von  $\Delta E=5$  entspricht einer Änderung der Farbe um eine sichtbare Nu-

ance. Um die Messwerte der Proben zu vergleichen wurde die Blauwollskala verwendet. Als Referenz dienten die Teststreifen Blauwoll 1-4 (Abb. 4.2).

## 4.5 Synthesen

### 4.5.1 Heptanoyl-5-Fluoruracil (H5FU)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
5-Fluoruracil	130,08	0,08	10,00		1,00
Kaliumhydroxid	56,11	0,08	4,49		1,00
Heptansäurechlorid	148,63	0,09		13,50	1,10
Methanol	32,04			400,00	
Acetonitril anhyd.	41,05			1.000,00	
Essigsäureethylester	88,11			650,00	

Die Synthese von Heptanoyl-5-Fluoruracil wurde in Anlehnung an die, von Härtner et al. <sup>[118]</sup> beschriebene Synthese durchgeführt. 5-Fluoruracil (5-FU) und Kaliumhydroxid wurden in 400 mL Methanol suspendiert und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt, um die, in para-Stellung vorhandene Aminogruppe zu deprotonieren.

Anschließend wurde das Methanol über einen Rotationsdampfer destilliert und weitere 2 h über Hochvakuum getrocknet. Unter Schutzgas wurde die weiße Substanz in 1 L wasserfreiem Acetonitril anhydrous resuspendiert und auf 0 °C gekühlt.

Das Heptansäurechlorid wurde langsam über einen Tropftrichter unter Schutzgas getropft und bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Daraufhin wurde das Acetonitril destilliert

und das Rohprodukt in Essigsäureethylester, welches zuvor 24 h über ein Molsieb getrocknet wurde resuspendiert und über eine Fritte (Porengröße 3) abgenutscht. Das Filtrat wurde zweimal mit Ethylacetat gewaschen und verworfen.

Die Lösung wurde anschließend eingengt und 1 h am Hochvakuum getrocknet. Es wurden 17,84 g (97,0 %) eines weißen Feststoffs erhalten.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

7,25 (s, 1H); 7,7 (s, 1H); 2,60-2,56 (m, 2H); 2,69-1,61 (m, 2H); 1,42-1,29 (m, 6H); 1,01-0,97 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

177,04; 157,39; 150,43; 138,70; 115,82; 37,53; 31,65; 29,74; 22,50; 22,94; 14,02.

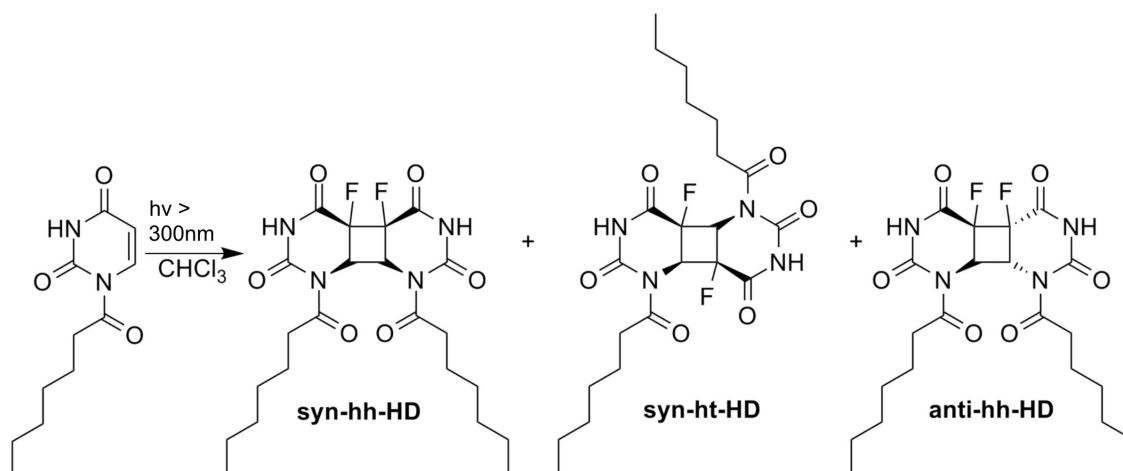
**$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

-164,90.

**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet für  $\text{C}_1\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_3$  (H5FU) 242,25 g/mol; gemessen 242,23 g/mol.

### 4.5.2 Heptanoly-5-Fluoruracil-Homodimere (H5FU-HD)



	$M/g \times \text{mol}^{-1}$	$n/\text{mmol}$	$m/g$	$V/\text{mL}$	$eq.$
<b>Heptanoly-5-Fluoruracil</b>	242,25	32,02	8,00		1,00
<b>Benzophenon</b>	182,22	0,27	0,05		0.008
<b>Chloroform</b>	119,38			80,00	

Heptanoly-5-Fluoruracil wurde mit dem Photosensitizer Benzophenon in 80 mL Chloroform unter Argon gelöst und gleichmäßig auf acht verschließbare Reagenzgläser (Schuett Biotec) aliquotiert und anschließend jeweils 5 Minuten mit Argon entgast.

Daraufhin wurden die Reagenzgläser in den jeweiligen Vorrichtungen des Rayonet-Reaktors befestigt und 48-72 h unter ständigen Rühren mit UV-Röhren des Typs Philipps Bodytone Isolde 40W-35 R bestrahlt. Der Reaktionsfortschritt wurde mittels analytischer HPLC kontrolliert. Die Lösungen der Reagenzgläser wurden vereint und destilliert.

Das daraus entstandene Rohprodukt (gelblicher Feststoff) wurde mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Dafür wurden jeweils 250 mg Rohprodukt in 5,5 mL Acetonitril gelöst, durch einen 0,45  $\mu\text{m}$  PTFE Filter (Minisart®highflow Spritzenvorsatzfilter, Sartorius AG) filtriert und durch das Lösungsmittelgemisch Acetonitril/Wasser (70/30) gereinigt.

Dabei wurden drei Isomere des Homodimers mit folgender Zusammensetzung enthalten: syn-hh-HD 0,34 g, 0,70 mmol, 34 %; syn-ht-HD 0,28 g, 0,58 mmol, 28 %; anti-hh-HD 0,18 g, 0,32 mmol, 17,5 %.

Die absolute Konfiguration der Homodimere wurde mit Hilfe von verschiedenen 2D-NMR Messungen bestimmt. Hierfür wurden TOCSY, NOESY und HMBC-Messungen durchgeführt.

**NMR Daten von syn-hh-HD Isomer:**

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

11,69 (s, 2H); 5,39–5,33 (m, 2H); 3,01–2,94 (m, 2H); 2,85 (ddd,  $J = 17,1; 8,2; 6,5$  Hz, 2H); 1,61–1,54 (m, 4H); 1,29 (dd,  $J = 5,9; 4,1$  Hz, 12H); 0,88 (s,  $J = 6,7$  Hz, 6H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

174,05; 162,84; 149,54; 57,36; 37,73; 31,02; 28,03; 24,13; 21,96; 13,87.

**$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

-151,38.

**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 484,21 g/mol; gefunden 484,2 g/mol.

**NMR daten von syn-ht-HD Isomer:**

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

11,81 (s, 2H); 5,99–5,85 (m, 2H); 2,96–2,88 (m, 2H); 2,82 (m, 2H); 1,66–1,50 (m, 4H); 1,37–1,22 (m, 12H); 0,86 (d,  $J = 7,0$  Hz, 6H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

173,95; 161,94; 148,50; 56,06; 37,82; 31,02; 28,09; 24,06; 21,96; 13,88.

**$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

-188,41.

**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 484,21 g/mol (calc.); gefunden 484,4 g/mol.

**NMR Daten von anti-hh-HD Isomer:** **$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO-d6)  $\delta/\text{ppm}$ :**

11,86 (s, 2H); 5,55–5,49 (m, 2H); 2,75 (t,  $J = 7,3$  Hz, 4H); 1,50 (dd,  $J = 13,9$ ; 6,7 Hz, 4H); 1,32–1,23 (m, 12H); 0,88 (dd,  $J = 7,0$ ; 4,7 Hz, 6H).

 **$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO-d6)  $\delta/\text{ppm}$ :**

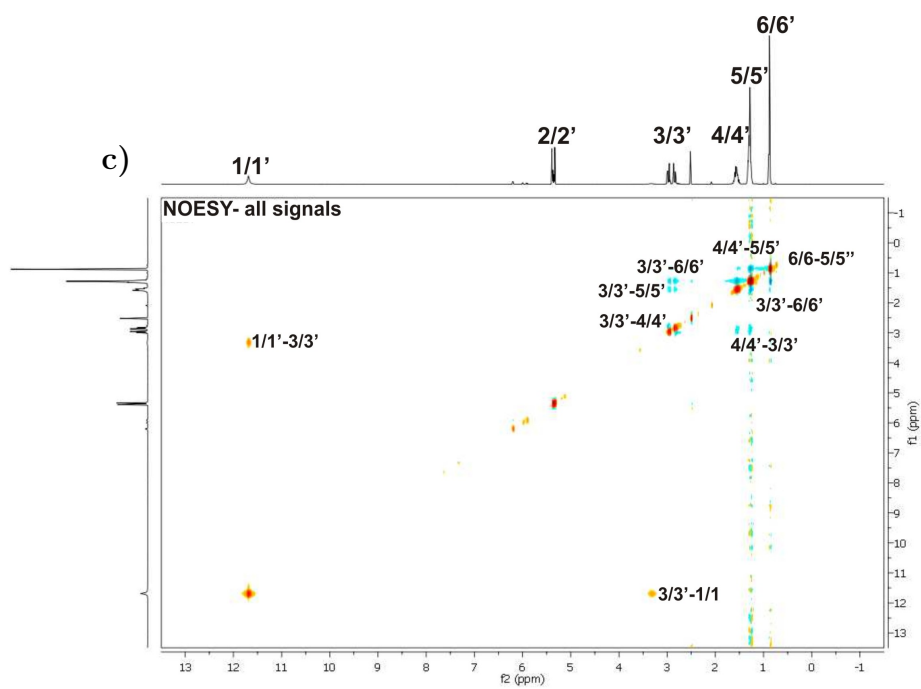
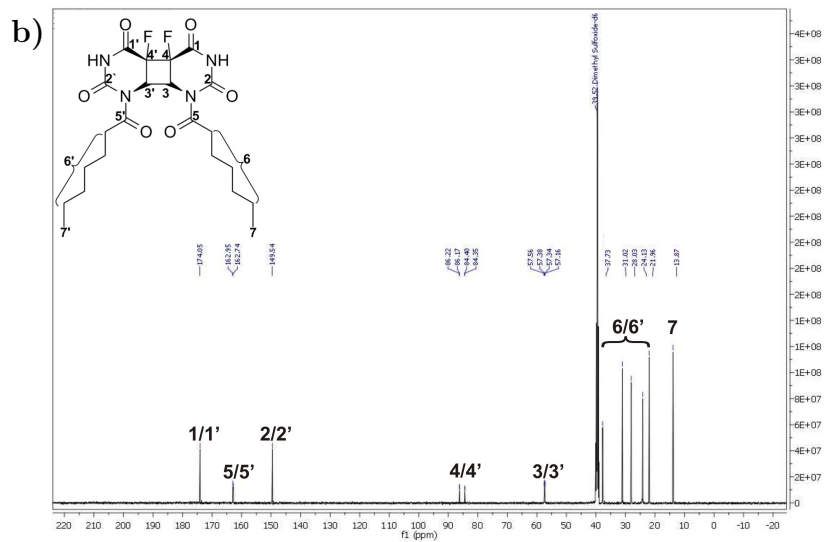
173,75; 161,98; 150,10; 53,77; 53,53; 38,13; 28,57; 24,51; 22,43; 14,32.

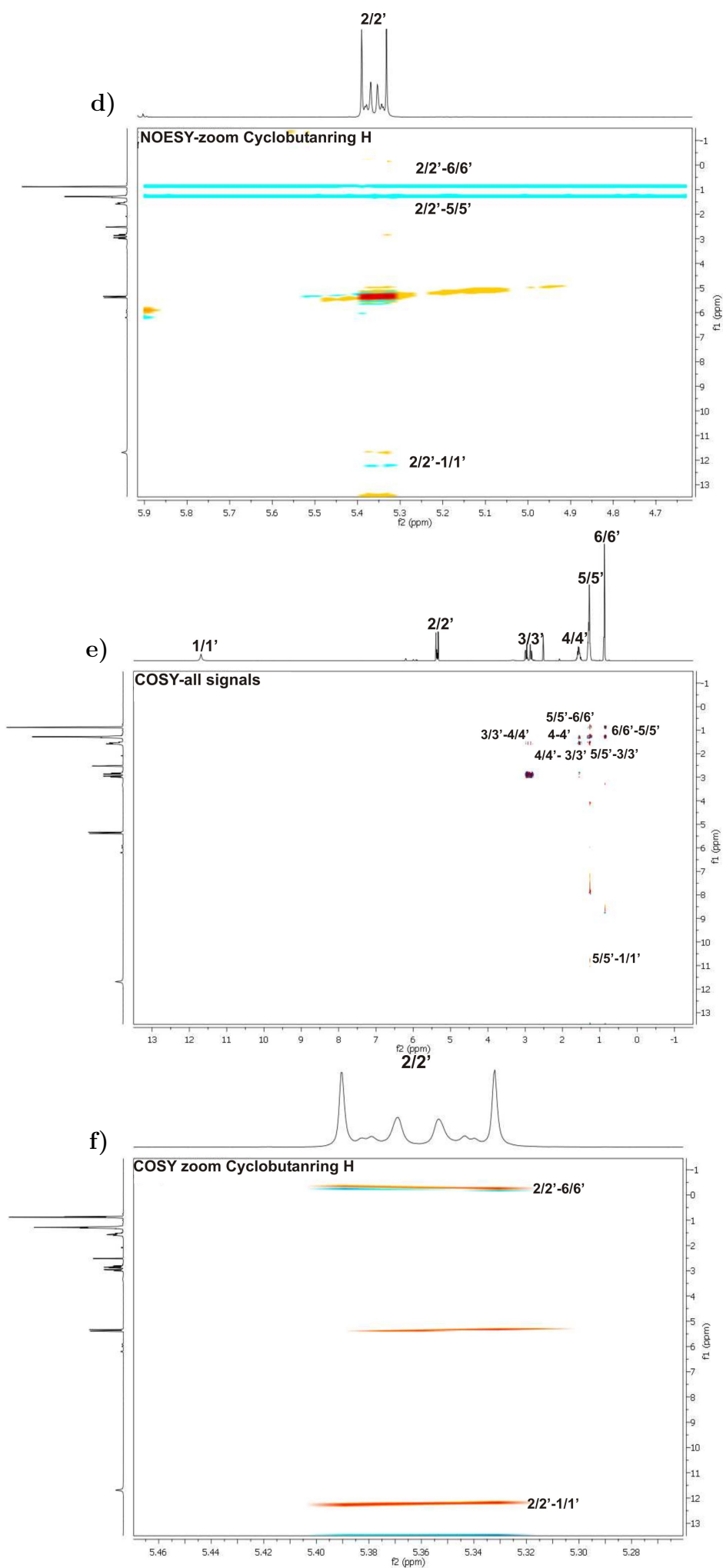
 **$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz, DMSO-d6)  $\delta/\text{ppm}$ :**

-157,86.

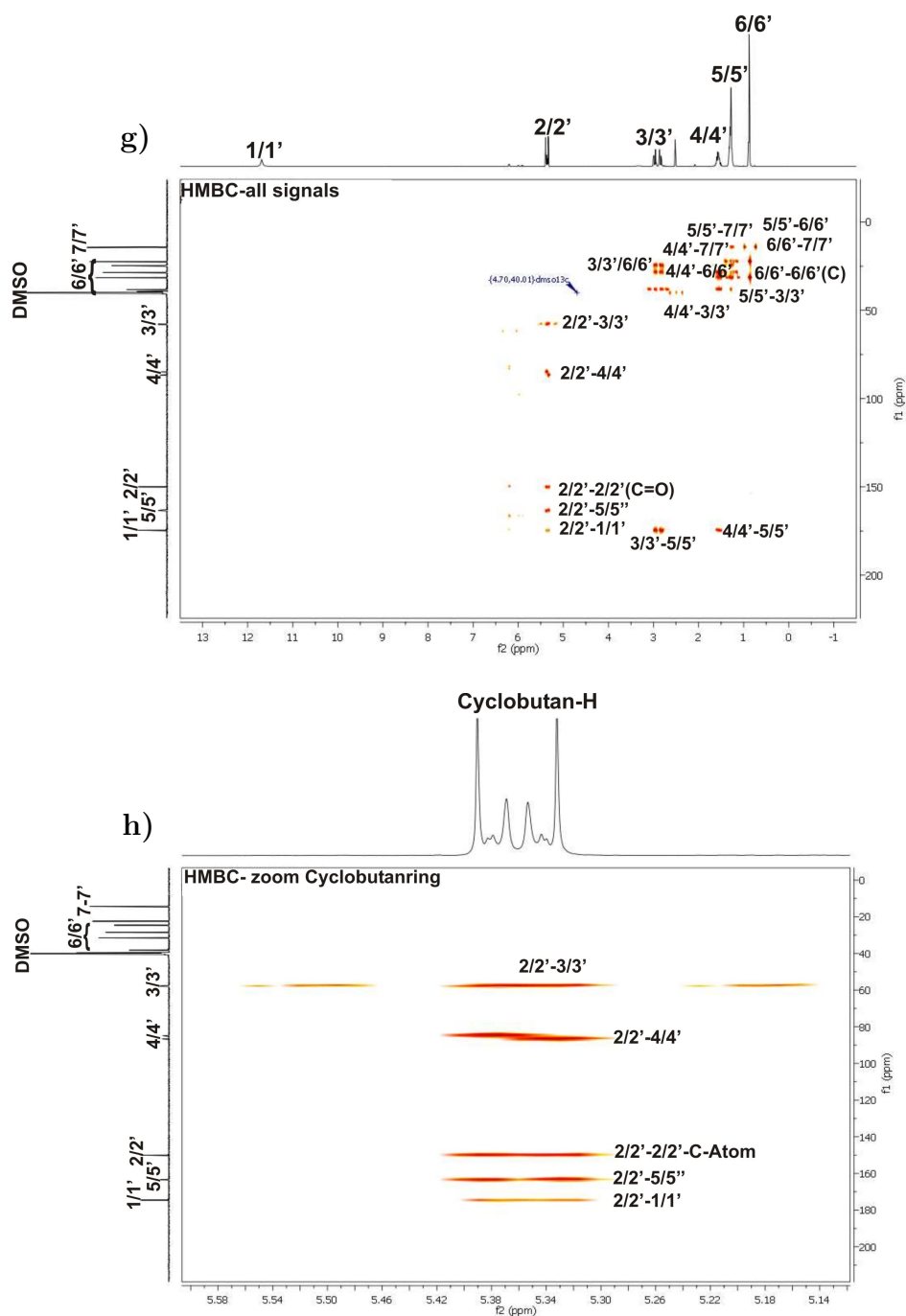
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):**

berechnet 484,21 g/mol; gefunden 484,1 g/mol.

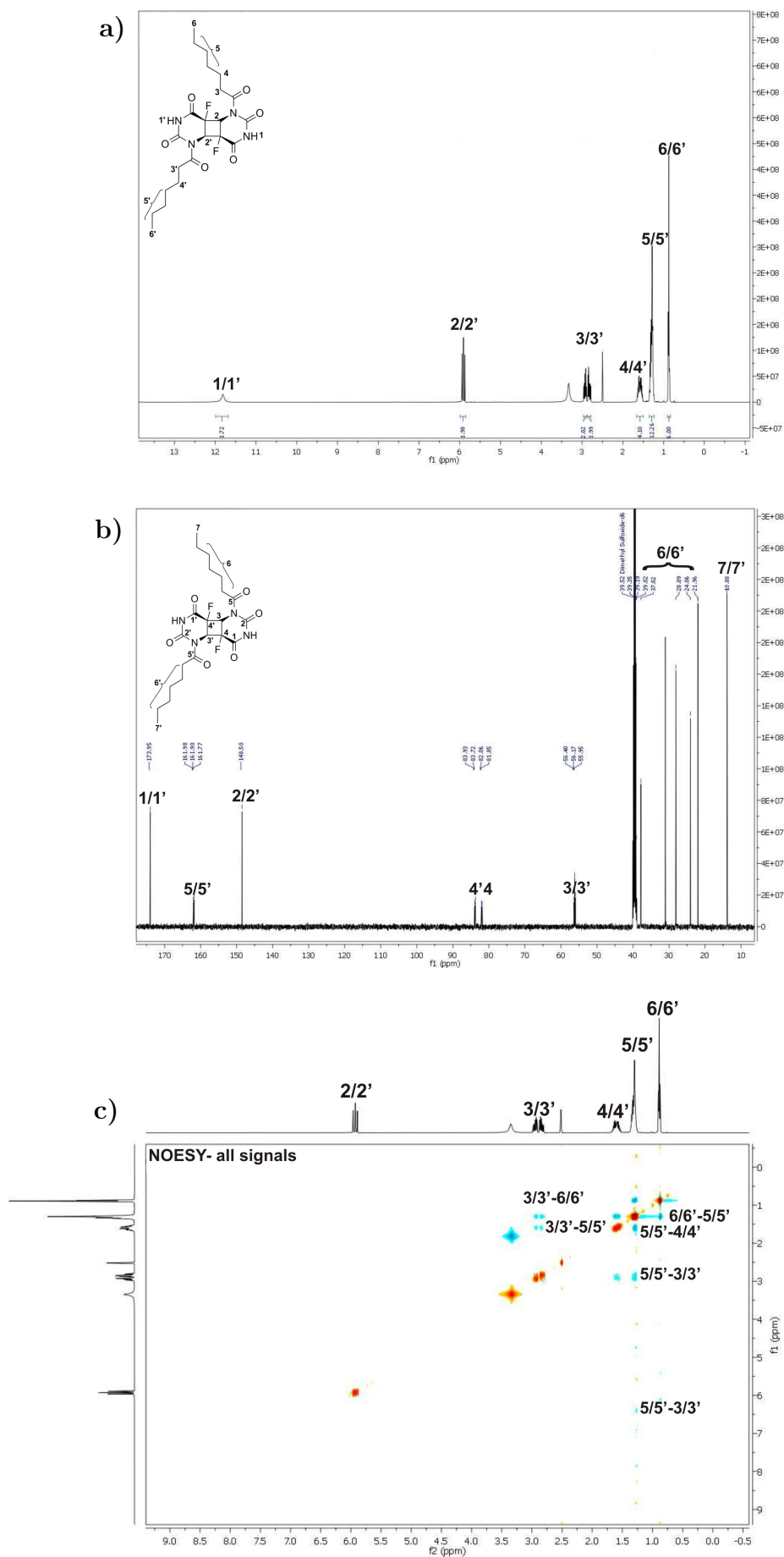


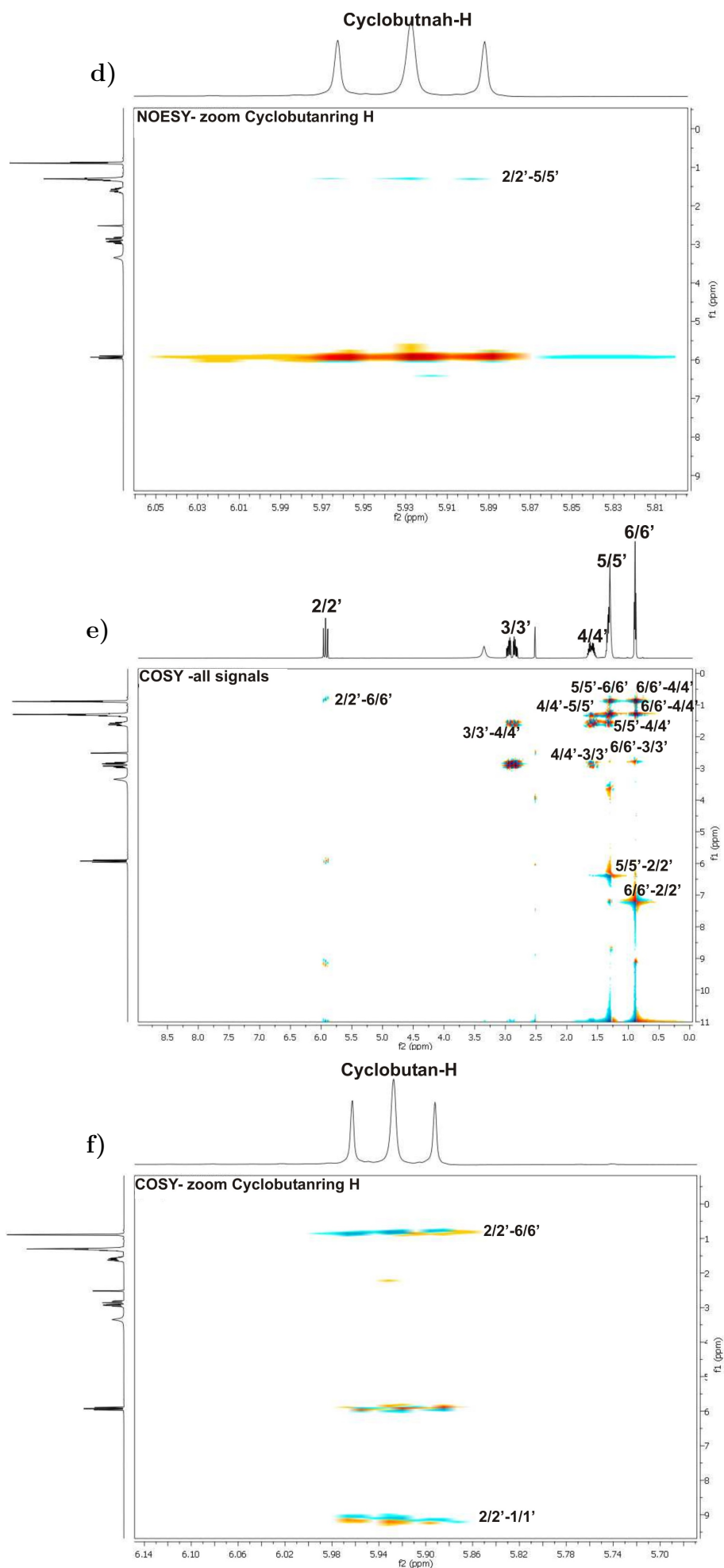


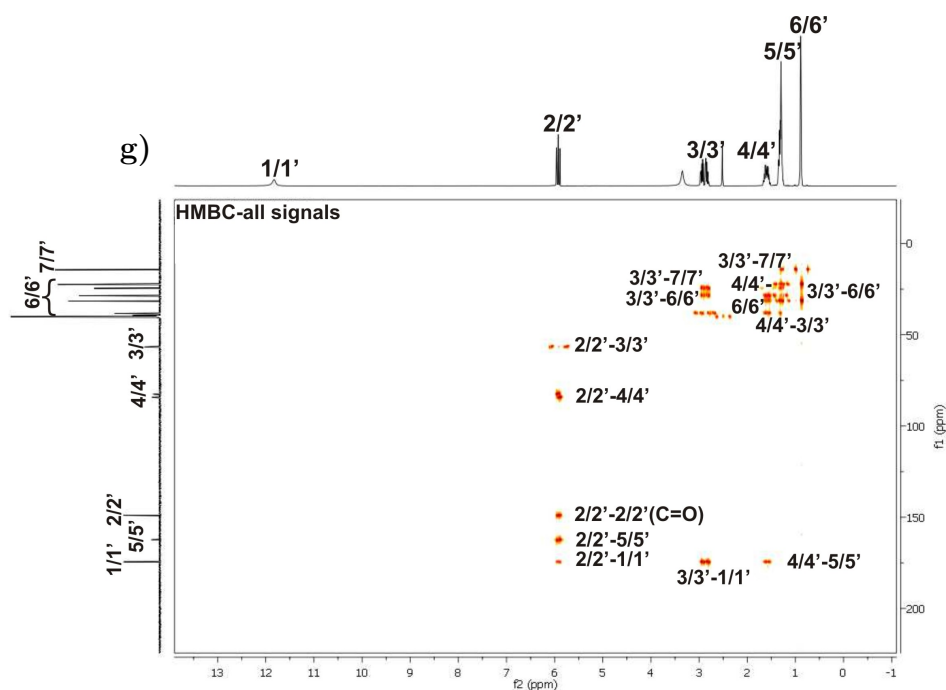




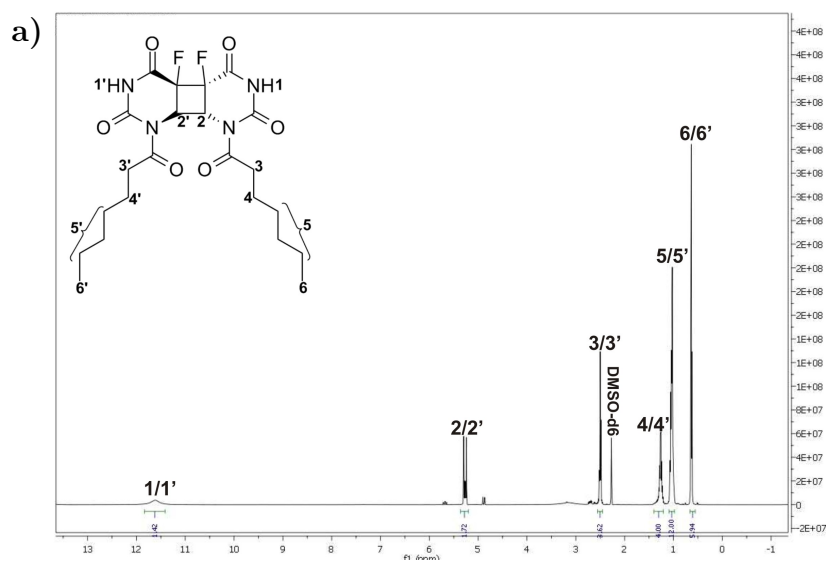
**Abbildung 4.3:** NMR-Spektren des Isomers H5FU-syn-head-to-head-HD. a) und b) 2-Spektren  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ , c) und d) NOESY-, e) und f) COSY-, g) und h) HMBC-Spektren.

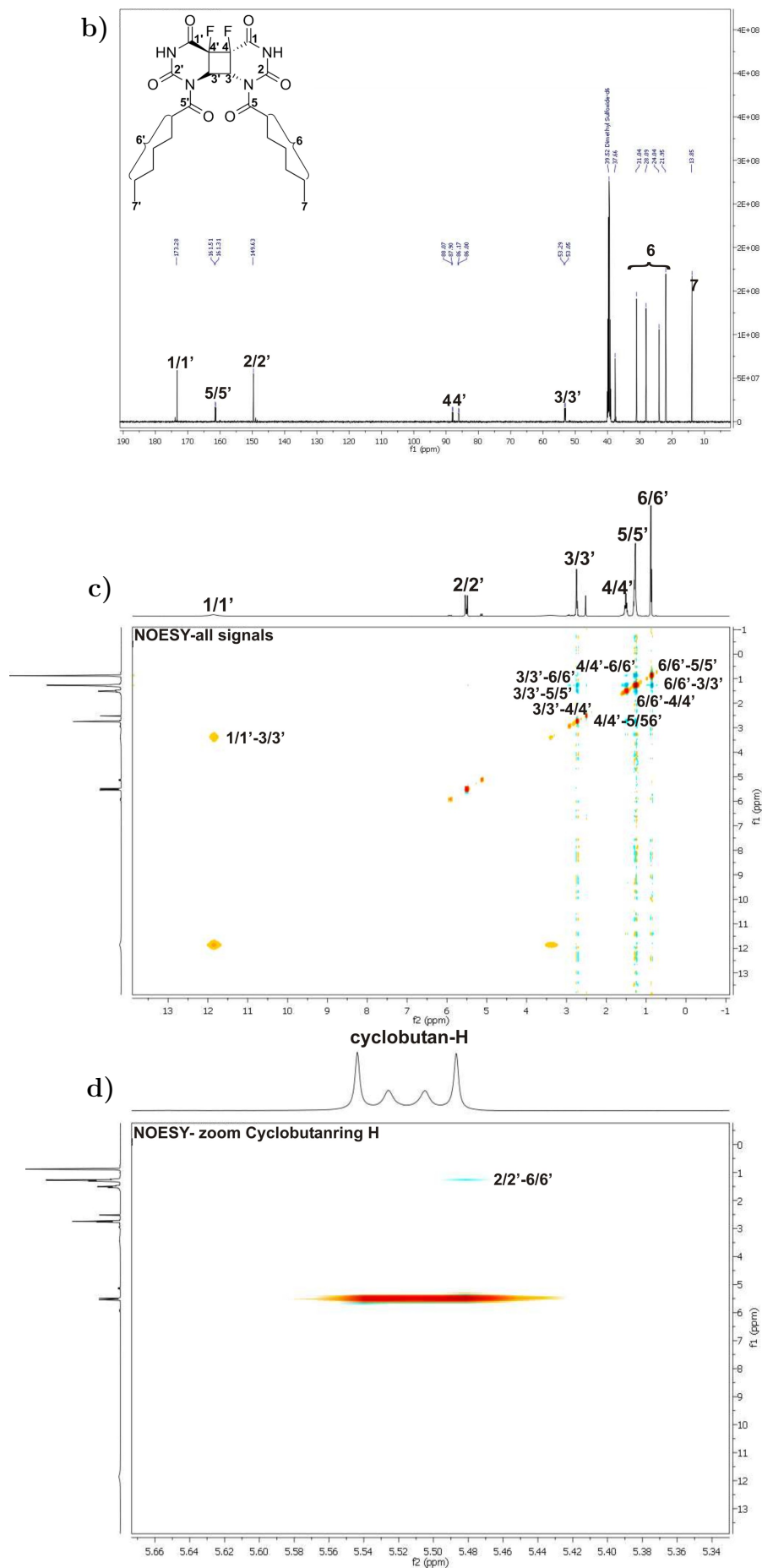


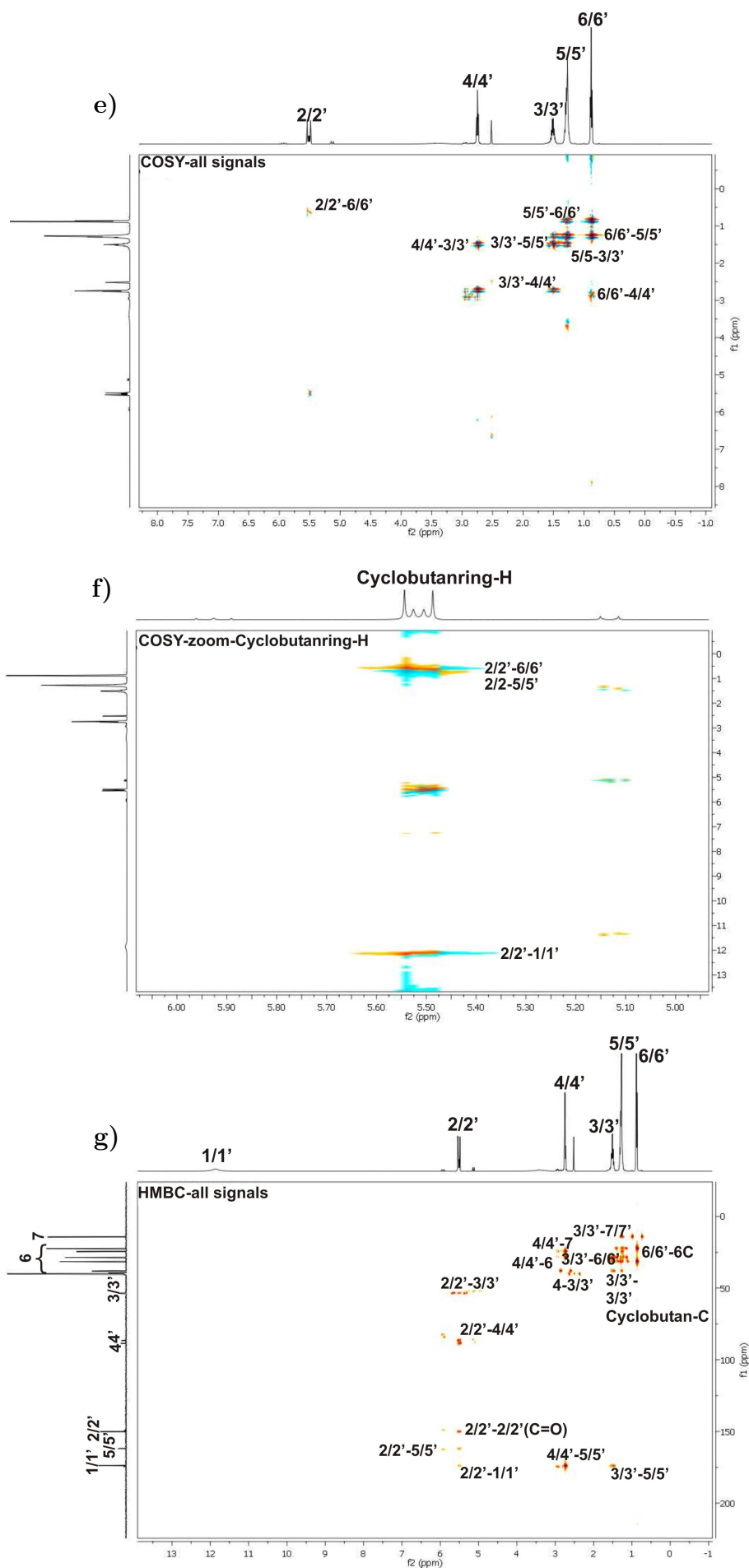


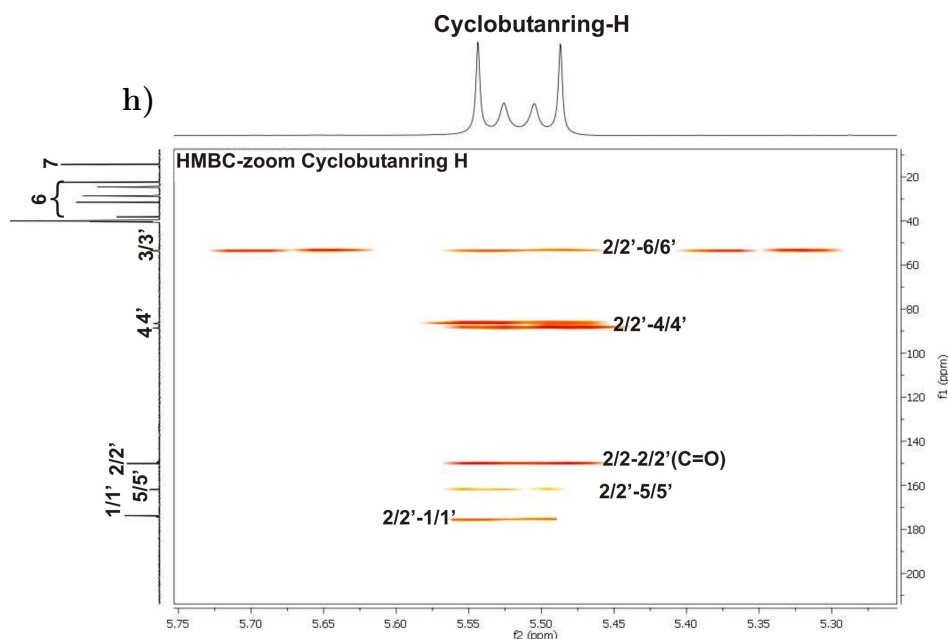


**Abbildung 4.4:** NMR-Spektren des Isomers H5FU-syn-head-to-tail-HD. a) und b) 2D-Spektren  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ , c) und d) NOESY-, e) und f) COSY-, g) HMBC-Spektren.



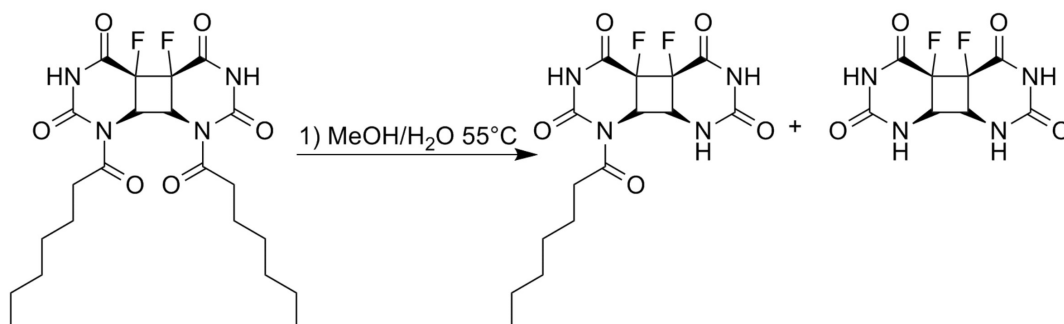






**Abbildung 4.5:** NMR-Spektren des Isomers H5FU-anti-head-to-head-HD. a) und b) 2D-Spektren  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ , c) und d) NOESY-, e) und f) COSY-, g) und h) HMBC-Spektren.

### 4.5.3 Hydrolyse von Heptanol-5-Fluoruracil syn-hh-Homodimer



**Abbildung 4.6:** H5FU-HD Hydrolyse

Die Entkopplung der Heptanolyschutzgruppe wurde unter milden Bedingungen erreicht. Für diese Reaktion wurde das Homodimer in einer Mischung bestehend aus Methanol/Wasser (60/40) gelöst und unter ständigem Rühren auf 55°C erwärmt.

Der Fortschritt der Hydrolysereaktion wurde mittels analytische HPLC überprüft (Abb. 4.7). Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt und filtriert. Das zwei-

fach entschütztes Molekül befand sich im Filtrat, das einfach entschütztes Homodimer in Lösung und wurde weiter verwendet. Die Lösung wurde dafür destilliert und im Hochvakuum getrocknet. Hierbei wurde eine weiße Substanz (68 mg, 0,14 mmol, 44 %) erhalten.

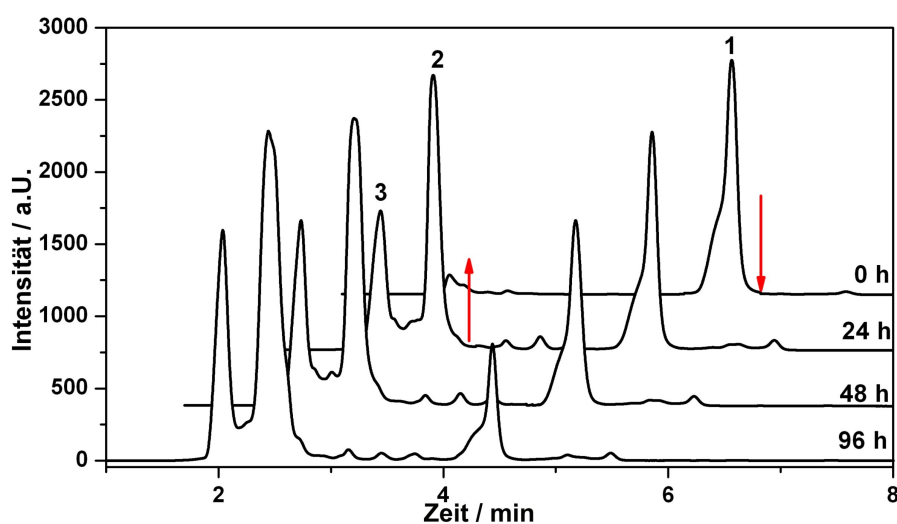
**LC/MS (*ESI*):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

**einfach entschütztes Homodimer ( $M^+$ ):**

berechnet 372,12 g/mol; gefunden 371,1 g/mol.

**zweifach entschütztes Homodimer ( $M^+$ ):**

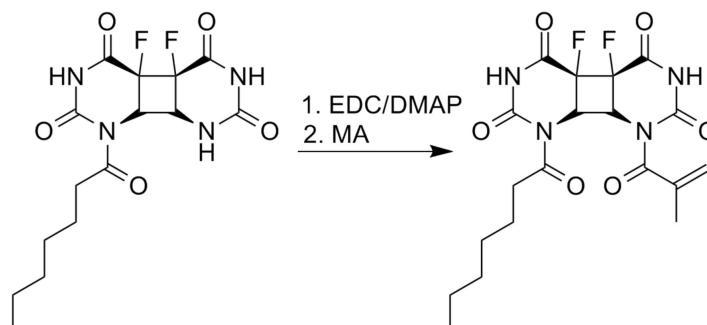
berechnet 260,0 g/mol ( $M^+$ ) gefunden 283,1 ( $M^+ + Na^+$ ) g/mol.



**Abbildung 4.7:** Reaktionskontrolle der Hydrolyse der Heptanoylschutzgruppe am Beispiel des Isomers syn-head-to-head-H5FU-HD. Die Retentionszeiten für das geschützte Homodimer betrug 4,34 min, des einfach entschützten Homodimers 2,41 min und die des zweifach entschützten Dimers 2,01 min.



#### 4.5.4 8'-Methylacrylat-8-Heptanoyl-5-Fluoruracil-syn-hh-Homodimer (H5FU-syn-hh-HD-MA)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/mg$	$V/mL$	$eq.$
8-NH-8'-H5FU-syn-hh-HD	372,12	0,12	60,00		1,00
(N',N'-dimethylamino)	192,29	0,21	40,38		1,70
propylcarbodiimide(EDC)					
4-(N,N-dimethylamono)	122,20	0,03	3,03		0,20
pyridin (DMAP)					
Methacrylsäure (MA)	86,09			0,012	1,10
Dichlormethan anhydrous.	84,93			50,00	

Das Homodimer wurde mit EDC und DMAP unter Schutzgas in Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wurde unter Argonstrom die Methacrylsäure hinzugegeben und bei Raumtemperatur 24-48 h gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde über HPLC verfolgt. Anschließend wurde die organische Phase zweimal gegen Natriumhydrogencarbonatlösung (5 %) extrahiert, über wasserfreiem NaSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Dichlormethan wurde durch Destillation entfernt.

Dabei wurde ein gelblich brauner Feststoff (88 mg, 84 %) erhalten.

#### NMR Daten von syn-hh-HD-MA:

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ/ppm:

8,39 (s, 1H); 8,07 (s, 1 H); 6,77 (m, 1H); 5,24-5,21 (m, 1H); 4,99-4,97 (t, J = 0,40 Hz, 2H); 4,84 (m, 2H); 2,85 (s, 1 H); 1,88 (t, J = 7,0; 4,7 Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO-d6)  $\delta/\text{ppm}$ :

174,08; 164,21; 163,97; 163,07; 162,76; 151,32; 151,13; 149,94; 124,94; 85,50; 81,89; 57,92; 56,35; 56,03; 31,07; 28,06; 24,22; 21,99; 13,92.

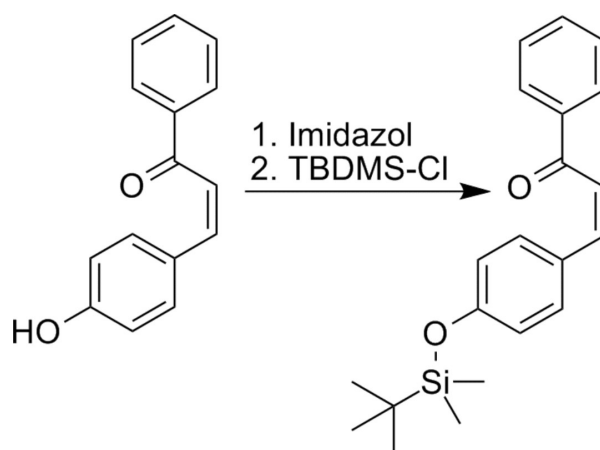
$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz, DMSO-d6)  $\delta/\text{ppm}$ :

-179,3.

LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):

berechnet 328,06 g/mol; gefunden 374,5 g/mol ( $\text{M}^+ + 2 \times \text{Na}^+$ ).

#### 4.5.5 4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon (4-COTBS)



	$M/g \times \text{mol}^{-1}$	$n/\text{mmol}$	$m/g$	$V/\text{mL}$	$eq.$
4-Hydroxychalkon	224,26	0,022	5,00		1,00
Imidazol	68,08	0,11	7,59		5,00
tert-Butyldimethylsilyloxychlorid (TBDMS-Cl)	150,06	0,045	6,73		2,00
Tetrahydrofuran	72,11	3,70		300,00	
Chloroform	119,38			280,00	
5 % $\text{NaHCO}_3$ -Lösung					n.B.

Zunächst wurde 4-Hydroxychalkon und Imidazol unter Schutzgas (Argon) in 300 mL THF gelöst und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde unter Schutzgas das TBDMS-Cl hinzugegeben. Dabei präzipitieren die überschüssigen Silikatsalze und es entsteht eine Suspension. Diese wurde 24 h- 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde mittels HPLC-Analyse detektiert und anschließend filtriert. Das Filtrat wurde weiterverwendet und THF abrotiert. Der ölige Rückstand wurde mit 280 mL Chloroform aufgenommen, zweimal gegen 5% ige Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal gegen Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde aufgefangen und zu einem gelben öligen Rückstand eingengt. Dabei wurden 8,24 g, 78 % 4-COTBS erhalten.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

8,12 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H, H-Ar); 7,97-7,83 (m, 3H, H-Ar); 7,70 (d,  $J = 15,6$  Hz, 1H, H-Ar); 7,48-7,41 (m, 3H, H-Ar); 7,38-7,21 (m, 1H, H-Ar); 7,01-6,79 (m, 1H, H-Ar); 1,02-0,80 (m, 6H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 0,76-9,63 (m, 6H, Si-C-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

174,05; 162,84; 149,54; 57,36; 37,73; 31,02; 28,03; 24,13; 21,96; 13,87.

**$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

-179,3.

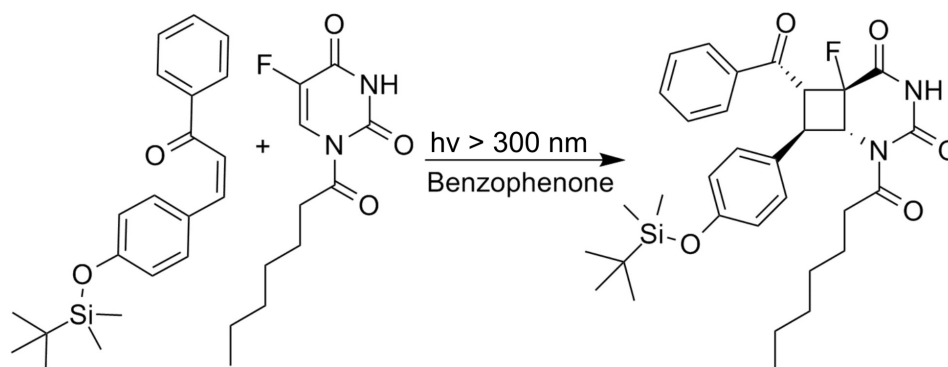
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 383,17 g/mol; gefunden 339,4 g/mol.

**HPLC-Messung:**

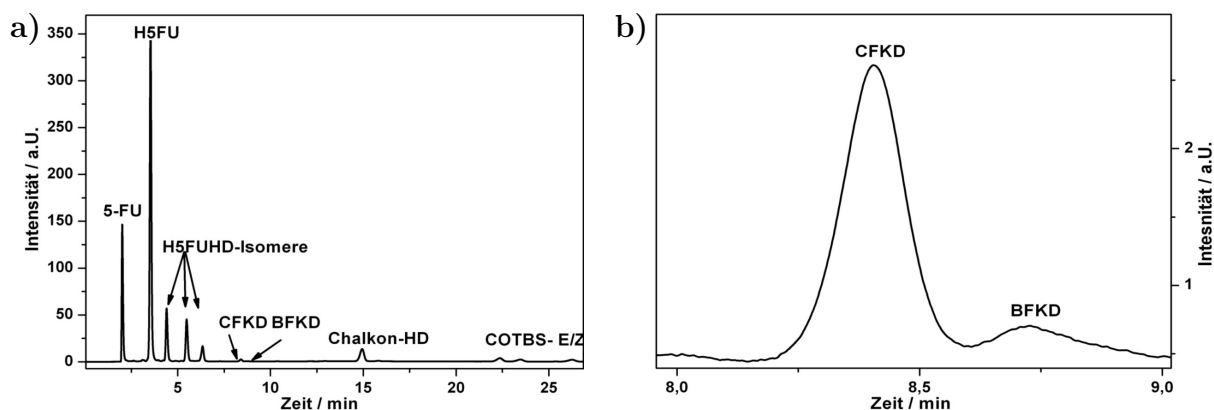
Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 26,4 min.

#### 4.5.6 4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon - Heptanoly-5-Fluoruracil-Kreuzdimer (CFKD)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
Heptanoly-5-Fluoruracil	242,25	33,02	8,00		1,00
4-tert-Butyldimethylsilyloxy- chalkon (COTBS)	338,17	1,89	0,64		0,10
Benzophenon	182,22	0,35	0,07		0,009
Chloroform	119,38			80,00	

Wie in Kapitel 4.5.1 beschrieben wurde H5FU synthetisiert und für die photochemische [2+2]-Cycloaddition mit 4-COTBS verwendet. Die Reaktion wurde wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben mit Hilfe des Rayonet-Reaktors durchgeführt. Die Reaktionsdauer betrug 120-168 h. Die Reaktion wurde dann beendet, als keine Änderung bei dem Kreuzdimer-Anteil via HPLC festgestellt werden konnte (Abb. 4.8).



**Abbildung 4.8:** Reaktionskontrolle der [2+2]-Cycloadditionsreaktion mittels HPLC. a) Komplettes Chromatogramm der Reaktionslösung mit Elutionslösungsmittelzusammensetzung 75/25 ACN/H<sub>2</sub>O. Retentionszeiten: 5-FU 2,01 min, H5FU 3,25 min, H5FU-HD-Isomere 4,2 min - 6,08 min, CFKD 8,304 min und BFKD (Benzophenon-H5FU-Kreuzdimer, Kapitel 4.7) 8,45 min, 14,8 min Chalkon-HD, 4-tert-Butyldimethylsilyl-Chalkon E/Z-Isomere 21-26 min b) CFKD-Kreuzdimer im Zoom.

Die Suspensionen der einzelnen Reagenzgläser wurden in einem Stickstoffkolben vereint und das Chloroform abrotiert. Anschließend wurde das gelbe Rohprodukt im Hochvakuum getrocknet, lichtgeschützt und unter Schutzgas gelagert. Gereinigt wurde das Rohprodukt mit Hilfe der präparativen HPLC. Dafür wurden jeweils 300 mg in 5,5 mL Acetonitril gelöst und durch einen isokratischen Gradienten mit den Anteilen 75/25 ACN/Wasser als Elutionsmittel gereinigt. Es wurden 126 mg des orange-braunen Feststoffs CFKD (0,30 mmol, 11,48 %) erhalten.

Die absolute Konfiguration des Kreuzdimers wurde mit Hilfe von verschiedenen 2D-NMR-Messungen bestimmt. Hierfür wurden TOCSY, NOESY und HMBC-Messungen durchgeführt.

#### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm:

7,73 (d, J=7,3 Hz, 2H, H-Ar); 7,47 (t, J=7,6 Hz, 2H, H-Ar); 7,40 (t, J=7,4 Hz, 1H, H-Ar); 7,36-7,33 (m, 2H, H-Ar); 7,20 (dd, J=7,7 Hz, J=1,9 Hz, 2H, H-Ar); 3,47 (td, 1H, J=6,7 Hz, 2,9 Hz, CycloarH); 3,54 (q, J= 7,0Hz, 1H, CycloarH); 5,86 (d, 1H, J=15,4 Hz, CycloarH); 1,11-1,07 ( m, 22H, Heptanoylschutzgruppe, Si-C-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0,75-0,73 (m, 6H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ /ppm:**

194,03; 188,73; 160,94; 160,22; 193,98; 139,59; 136,56; 135,11; 131,69; 130,74; 130,35;  
130,31; 128,92; 128,36; 126,63; 121,97; 120,15; 120,05; 118,01; 77,48; 70,06; 76,64; 56,63;  
43,91; 30,34; 25,71; 25,61; 25,56; 18,26; 18,12; -2,94; -4,34.

 **$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ /ppm:**

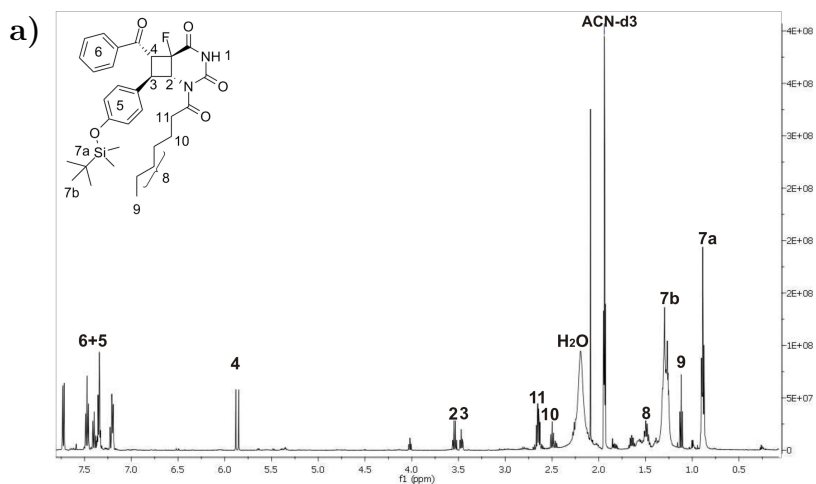
-106,78.

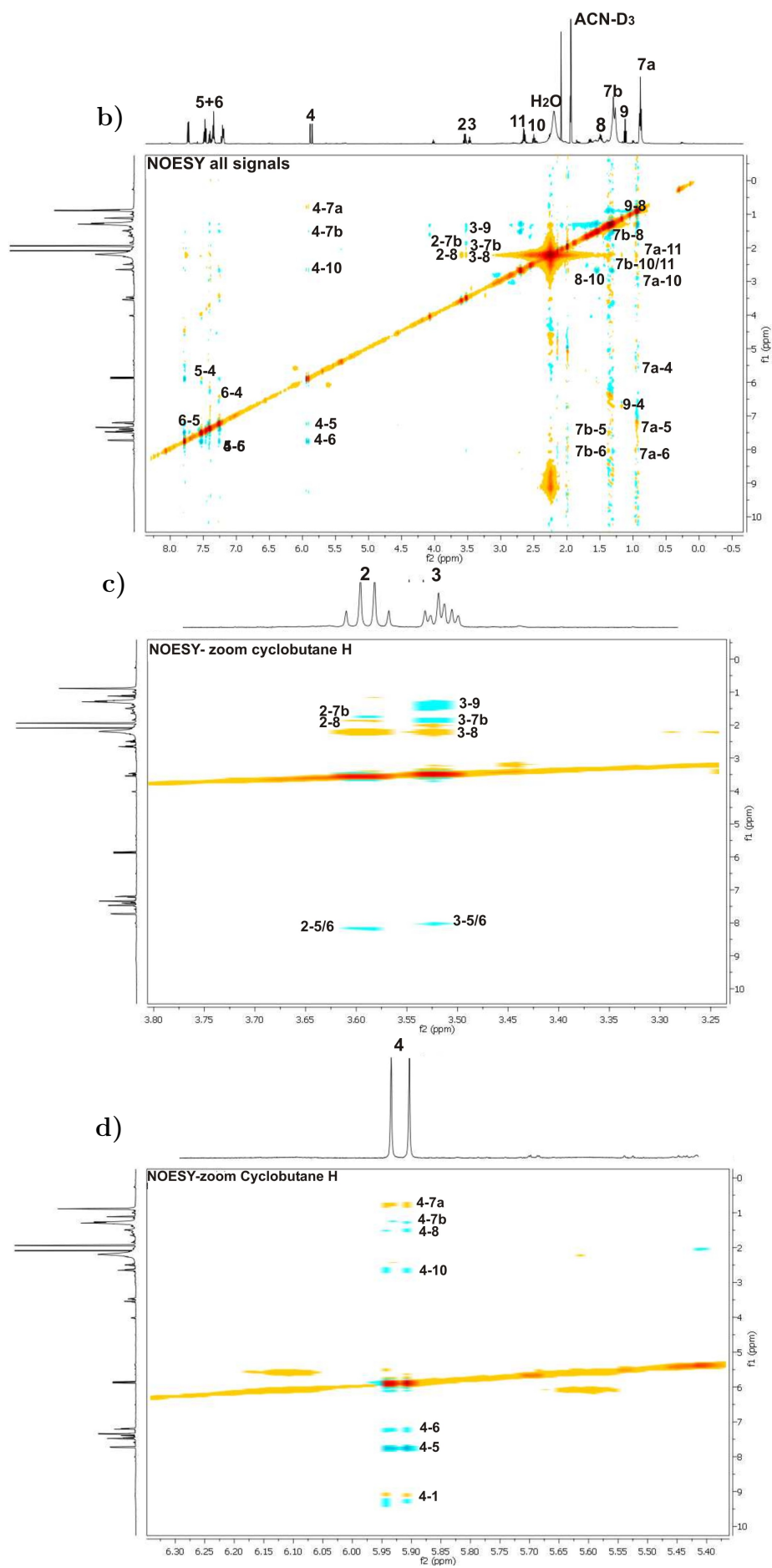
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):**

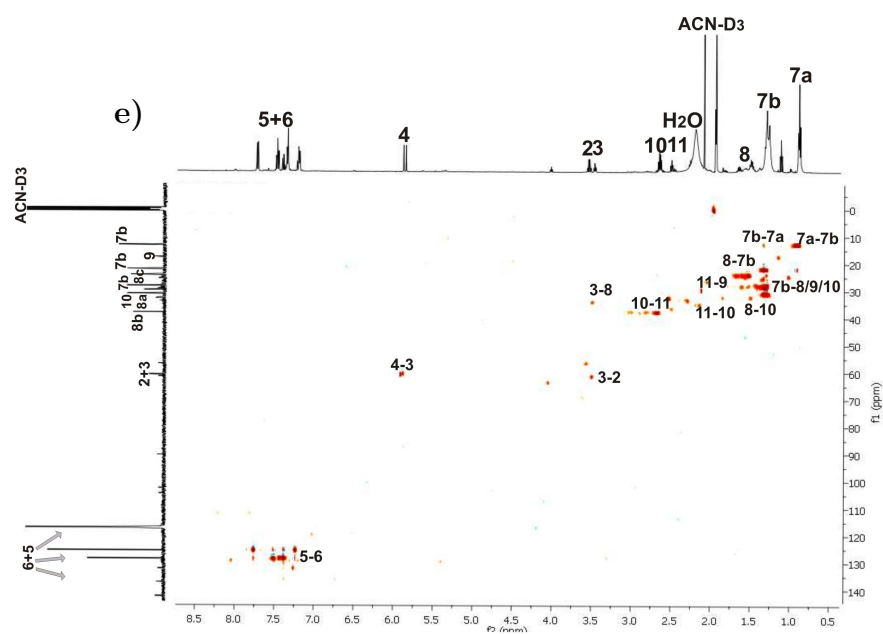
berechnet 580,28 g/mol; gefunden 588,4 g/mol.

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 8,25 min.



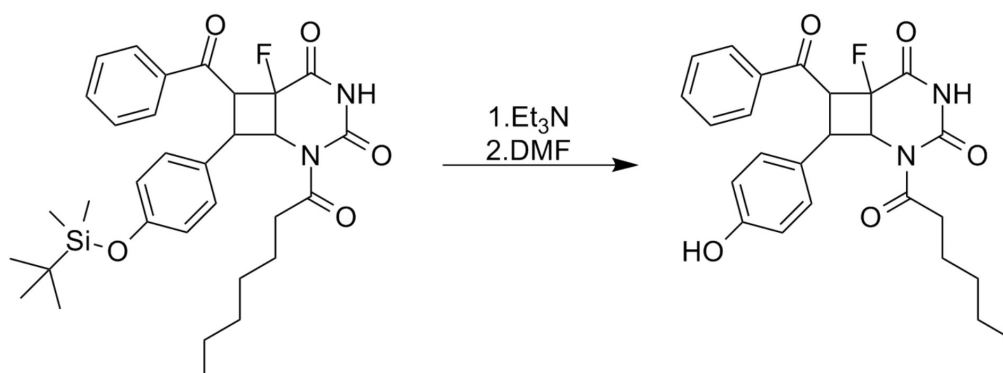




**Abbildung 4.9:** Mit Hilfe von a)  $^1\text{H}$ -NMR, b) bis d) NOESY und e) HSQC, konnte die absolute Konfiguration von CFKD als CFKD-anti-head-to-head bestimmt werden.



### 4.5.7 4-Hydroxychalkon - Heptanoly-5-Fluoruracil-Kreuzdimer (CFKD-OH)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
<b>CFKD</b>	580,28	0,19	110,00		1,00
<b>Triethylamin</b>	101,19	1,51		0,21	8,00
<b>Dimethylformamid (DMF)</b>	73,10			1,00	

Für die weitere Verarbeitung von CFKD musste zunächst die TBDMS-Schutzgruppe entfernt werden. Für diese Entschützung wurden relativ milde Bedingungen gewählt, um der Hydrolyse der Heptanolschutzgruppe vorzubeugen. Das Kreuzdimer wurde in DMF gelöst und es wurden 210  $\mu$ L Et<sub>3</sub>N hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur 24 h inkubiert und über präparative HPLC unter Verwendung eines isokratischen Elutionsgemisches, bestehend aus ACN/H<sub>2</sub>O (60/40), gereinigt. Das Elutionsgemisch wurde abrotiert und das Produkt im Hochvakuum getrocknet. Es wurden 67 mg (0,14 mmol, 75 %) eines braunen Feststoffs erhalten.

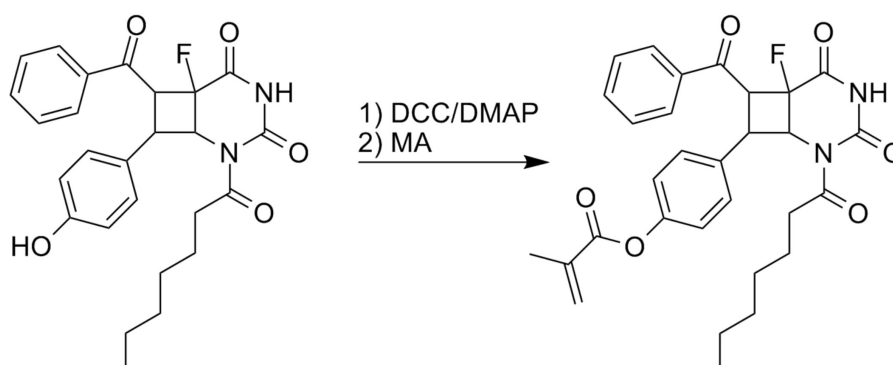
#### LC/MS (ESI): $m/z$ ( $M^+$ ):

berechnet 466,19 g/mol; gefunden 512,31 g/mol ( $M^+ + 2 \times Na^+$ ).

#### HPLC-Messung:

Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 4,5 min.

### 4.5.8 4-Methacrylatchalkon - Heptanoyl-5-Fluoruracil-Kreuzdimer (CFKD-MA)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
CFKD-OH	466,19	0,13	60,00		1,00
N'N'-Dicyclohexylcarbodiimid	206,33	0,22	45,14		1,70
4-(Dimethylamino)pyridin	122,17	0,04	4,72		0,30
Methylmethacrylat	100,12	0,17		0,02	1,30
Dichlormethan (anhyd.)	84,93			55,0	

Wie in Kapitel 4.5.4 beschrieben wurde über die Steglichveresterung eine Methacrylatgruppe an die freie Hydroxylgruppe des Chalkons kovalent gebunden. Zunächst wurde N'N'-Dicyclohexylcarbodiimid, und 4-(Dimethylamino)pyridin mit dem Kreuzdimer CFKD-OH in einen Stickstoffkolben gegeben und unter Schutzgas in Dichlormethan gelöst. Nach 30 min Rühren wurde die Lösung auf 0°C gekühlt und anschließend unter Schutzgas langsam das Methylmethacrylat zugetropft. Die Lösung wurde 48 h gerührt und anschließend wurde das Produkt gegen 5% ige NaHCO<sub>3</sub> ausgeschüttelt. Nachdem das Lösungsmittel destilliert wurde, wurden 80 mg (0,15 mmol, 84 %) des rötlich-braunen Produkts CFKD-MA erhalten.

#### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm:

7,51 (s, 1H, H-Ar); 7,37-7,39 (m, 1H, H-Ar); 7,24-7,26 (m, 3H, H-Ar); 7,13-7,17 (m, 2H, H-Ar); 5,93 (s, 1H, Ma-H); 5,66 (m, 1H, Ma-H); 5,37 (s, 1H, Ma-H); 5,25-5,14 (m, 1H,

Cycloar-H); 2,91 (m, 2H, Heptanolyschutzgruppe); 2,69 (q, 1H, Cycloar-H); 2,49-2,42 (m, 4H, Heptanolyschutzgruppe); 2,32-2,37 (m, 2H, Heptanolyschutzgruppe); 2,01 (s, 3H); 1,95 (s, 3H); 1,63 (m, 3H, Heptanolyschutzgruppe).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, Acetonitrile- $\text{d}_3$ )  $\delta$ /ppm:**

207,52; 176,50; 162,61; 162,43; 162,29; 149,52; 143,34; 138,17; 138,13; 133,21; 129,61; 126,60; 105,63; 102,58; 91,42; 62,09; 61,87; 39,08; 33,97; 33,22; 32,10; 30,84; 29,42; 29,32; 29,21; 25,48; 25,30; 23,17; 18,69; 14,27.

**LC/MS (ESI): m/z ( $\text{M}^+$ ):**

berechnet 521,26 g/mol; gefunden 423,2 g/mol ( $\text{M}^+$ -Heptanolyschutzgruppe von 5-FU).

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 6,5 min.

#### **4.5.9 Photochemisch kontrollierte Copolymerisation von (CFKD-MA) an HEMA/MMA-Mischung**

Bevor das Kreuzdimer CFKD-MA verwendet wurde, musste zunächst die Heptanoylschutzgruppe hydrolysiert werden. Hierfür wurde das Kreuzdimer in einer Acetonitril/-Wasser-Mischung 50/50 gelöst und bei 50°C 24 h gerührt [23]. Anschließend wurde das Lösungsmittelgemisch abrotiert. Dabei wurden 50 mg (39 %, 0,12 mmol) des braunen Produkts erhalten.

**LC/MS (ESI): m/z ( $\text{M}^+$ ):**

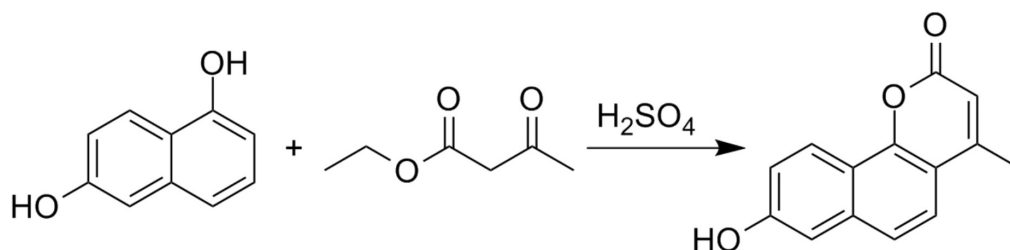
berechnet 422,13 g/mol; gefunden 423,2 g/mol.

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 5,7 min.

Anschließend wurde die Copolymerisation des Kreuzdimers, an die HEMA/MMA-Mischung nach dem bereits im Kapitel 4.6.1 beschriebenen Verfahren durchgeführt.

#### 4.5.10 Synthese von 8-Hydroxy-4-methyl-2H-benzo[h]chromen-2-on (BC)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	eq.
1,6-Dihydroxynaphthalen	160,17	62,00	10,00		1,00
(Ethyl-3-oxobutyrat)	130,14	58,00	4,49		0,90
Schwefelsäure	98,08	2,52		50,00	0,03

Unter Schutzgasatmosphäre wurde 1,6-Dihydroxynaphthalen und Ethyl-3-oxobutyrat in 99,8% iger Schwefelsäure gelöst. Dabei entstand eine bräunlich/grün scheinende Suspension. Diese wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde vorsichtig in Eiswasser gegeben und solange gerührt, bis das Eis geschmolzen war. Der dabei gebildete ölige Rückstand wurde unter Verwendung einer 4-Por Fritte abgenutscht und mit kaltem Wasser neutral gewaschen. Der grüne Rückstand wurde im Exsikkator getrocknet. Es wurden 8,5 g BC (72 %, 0,04 mol) erhalten.

##### $^1\text{H}$ NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta/\text{ppm}$ :

8,28 (d,  $J=9,2$  Hz, 1H, H-Ar); 7,76 (s, 2H, 7,49 (d,  $J=2,4$  Hz, 1H, H-Ar); 7,34 (dd,  $J=9,2$  Hz,  $J=2,5$  Hz, 1H, H-Ar); 6,43 (d,  $J=1,2$  Hz, 1H, H-Ar); 6,43 (d,  $J=1,2$  Hz, 1H, H-Ar); 2,5-2,48 (m, 3H, Car- $\text{CH}_3$ ); 0,51 (s, 1H, OH).

##### $^{13}\text{C}$ NMR (75MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) $\delta/\text{ppm}$ :

163,47; 156,35; 153,54; 152,98; 125,03; 124,96; 122,97; 121,02; 119,65; 114,68; 112,51; 88,61; 67,54; 21,29.

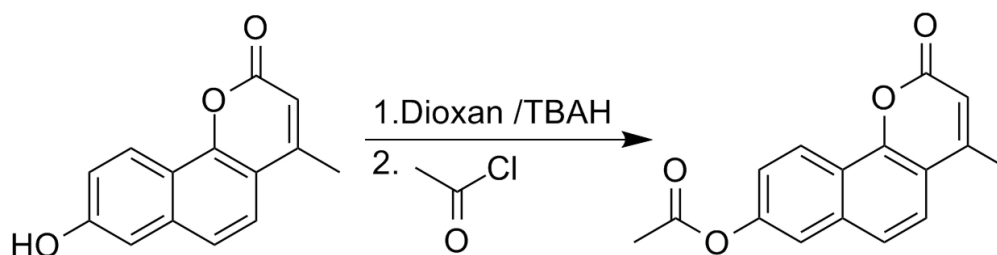
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 226,06 g/mol; gefunden 226,01 g/mol.

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 4,08 min.

#### 4.5.11 Synthese von 8-Acetoxy-4-methyl-2H-benzo[h]chromen-2-on (BCA)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	eq.
8-hydroxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on (BC)	226,06	11,06	2,50		1,00
(NaOH p.A.)	40,00	92,50			
Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAH)	259,48	0,19	0,05		0,02
Acetylchlorid	78,50	0,02		1,50	2,00
1,4- Dioxan	88,11			55,00	
Chloroform	119,83			n.B.	

Acetylchlorid wurde als Schutzgruppe für die Hydroxylgruppe des Trizyklus-Moleküls 8-Hydroxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on (BC) verwendet. Natriumhydroxid wurde in 55 mL 1,4-Dioxan unter Schutzgas gelöst. BC und TBAH wurden unter Schutzgas hinzugegeben und 20 min gerührt, anschließend wurde unter Argonatmosphäre das Acetylchlorid langsam zu getropft. Nach 5 h Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel durch einen Rotationsverdampfer abrotiert und das Rohprodukt für 20 min im Hochvakuum

getrocknet. Das gelb/grüne Rohprodukt wurde in 50-60 mL Chloroform gelöst und zweimal gegen 5 % NaHCO<sub>3</sub> ausgeschüttelt. Anschließend wurde die organische Phase mit wasserfreien NaSO<sub>4</sub> getrocknet und Chloroform abrotiert. Es wurden 8,24 g eines gelben Feststoffes BCA (8,24 g, 31 mmol, 78 %) erhalten.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ /ppm:**

8,42 (d, J= 9,1 Hz, 1H, H-Ar); 7,86 (d, J=1,3 Hz, 2H, H-Ar); 7,84 (d, J=2,2 Hz, 1H, H-Ar); 7,52 (dd, J=9,1 Hz, J= 2,3 Hz, 1H, H-Ar); 6,52 (d, J=1,3 Hz, 1H, H-Ar); 2,54 (d, J=1,2 Hz, 3H, Car-C(O)-CH<sub>3</sub>); 2,36 (s, 3H, Car-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ /ppm:**

169,18; 159,50; 154,18; 150,28; 149,18; 135,17; 124,97; 123,55; 122,31; 119,04; 116,99; 115,99; 113,81; 20,90; 18,65.

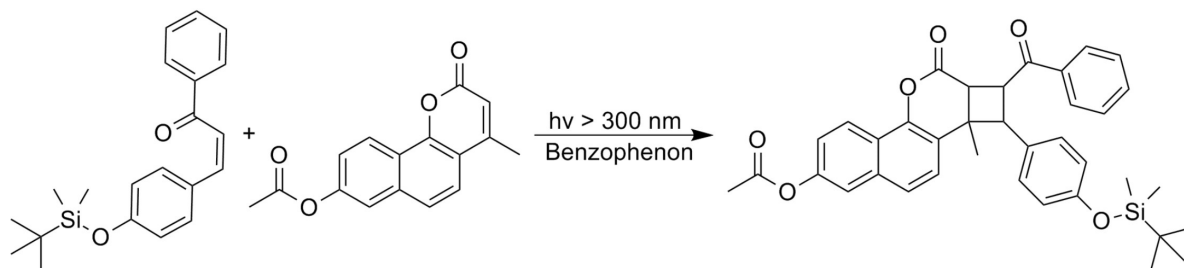
**LC/MS (ESI): m/z (M<sup>+</sup>):**

berechnet 268,26 g/mol; gefunden 268,3 g/mol.

**HPLC-Messung:**

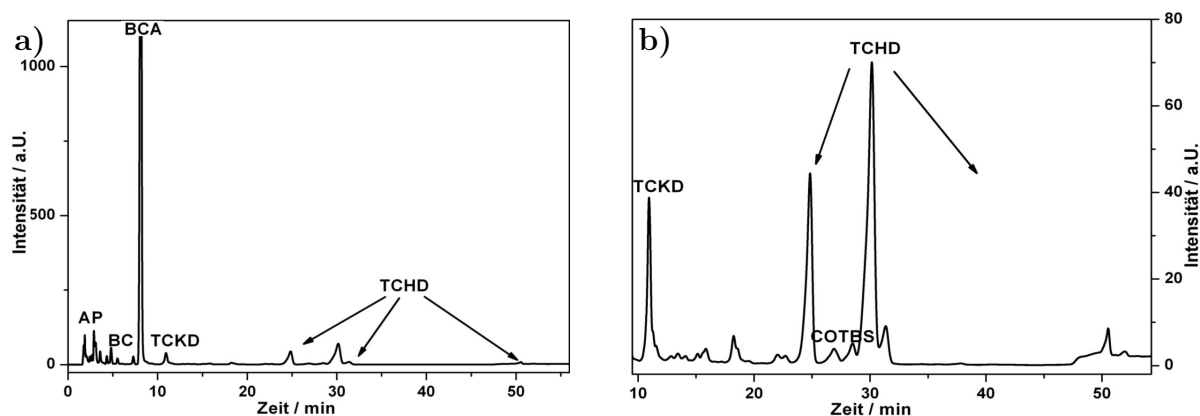
Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 8,09 min.

#### 4.5.12 7-Benzoyl-8-(4-(tert-Butyldimethylsilyloxy)phenyl)-8a-methyl-6-oxo-6a,7,8,8a-tetrahydro-6H-benzo[h]-cyclobuta[c]chromen-2-yl acetate-Kreuzdimer (TCKD)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	eq.
8-hydroxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on (BC)	226,06	11,06	2,50		1,00
4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon COTBS	338,17	1,89	0,64		0,10
Benzophenon	182,22	0,26	0,48		0,01
Acetonitril	41,05			80,00	

Wie in Kapitel 4.5.1 beschrieben wurde H5FU synthetisiert und für die photochemische [2+2]-Cycloaddition mit 4-COTBS verwendet. Die Reaktion wurde wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben mit Hilfe des Rayonet-Reaktors durchgeführt. Die Reaktionsdauer betrug 48-96 h. Die Reaktion wurde beendet, sobald keine Änderung bei dem Kreuzdimer-Anteil durch entsprechende HPLC-Messung mehr festgestellt wurde (Abb. 4.10).



**Abbildung 4.10:** Reaktionskontrolle der [2+2]-Cycloadditionsreaktion mittels HPLC. a) Komplettes Chromatogramm b) Zoom der Kreuz- und Homodimere, der Reaktionslösung mit dem Elutionsmittel ACN/H<sub>2</sub>O (75/25). Retentionszeiten: Trizyklus (BC) 4,01 min, acetylierter Trizyklus (BCA) 8,085 min, Trizyklus-Chalkon-Kreuzdimer (TCKD) 10,923 min, 24,78 min, COTES 26,00 min, 30,15 min, 31,36 min und 50,335 min Trizyklus-Homodimer-Isomere (TCHD).

Gereinigt wurde das Rohprodukt mit Hilfe einer präparativen HPLC. Dafür wurden jeweils 250 mg in 5,5 mL Acetonitril gelöst mit einem PTFE-Filter (0,45 µm) gefiltert und durch einen isokratischen Gradienten mit den Anteilen 75/25 ACN/H<sub>2</sub>O als Elutionsmittel gereinigt. Es wurden 350 mg des gelb-orangen Feststoffs TCKD erhalten (0,58 mmol, 70,48 %).

Die absolute Konfiguration des Kreuzdimers wurde mit Hilfe von verschiedenen 2D-NMR-Messungen bestimmt. Hierfür wurden NOESY und HSQC-Messungen durchgeführt.

#### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm:

7,80 (td, J=17,9 Hz, J=9,1, 2H, H-Ar); 7,60 (d, J=8,7 Hz, 1H, H-Ar); 7,46-7,50 (H-Ar); 6,84 (dt, J=8,4 Hz, J=2,3 Hz, 2H, H-Ar); 6,62-6,78 (m, 1H, CycloarH); 6,51 (dd, J=8,4 Hz, J=2,4 Hz, 1H, CycloarH); 6,22-6,11 (m, 2H, CycloarH); 4,21 (t, J=9,1 Hz, 1H, Cyclobutanring-H); 4,02-3,97 (m, 1H, Cyclobutanring-H); 3,95-3,89 (m, 1H, Cyclobutanring-H); 0,99 (s, 9H, tert-Butylsilylschutzgruppe); 0,79 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-Gruppe Cyclobutanring); 0,25 (s, 6H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

#### <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ/ppm:

170,40; 152,21; 150,04; 161,78; 160,18; 157,03; 156,64; 152,26; 150,74; 145,69; 145,01; 144,78; 135,36; 130,70; 130,32; 127,20; 125,43; 124,28; 123,72; 123,27; 121,90; 119,58;



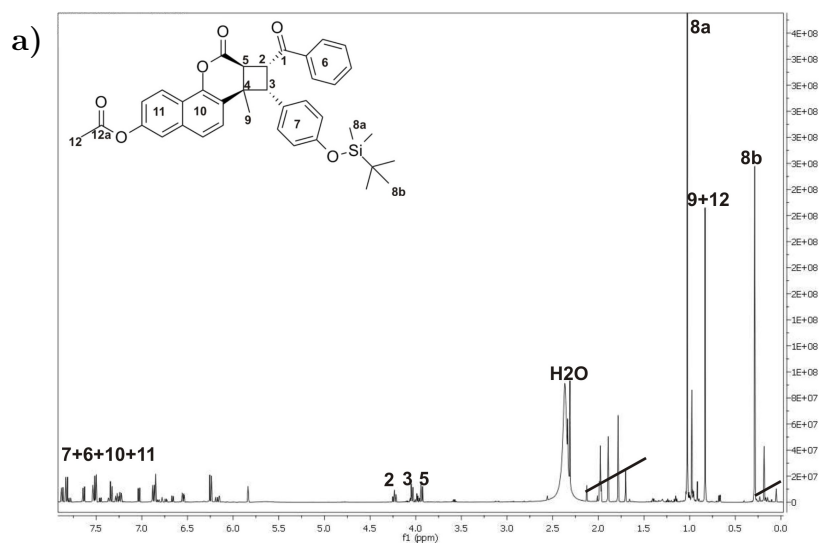
119,39; 117,89; 117,90; 114,52; 114,68; 108,87; 103,52; 48,51; 47,89; 46,13; 34,95; 30,50; 26,13; 21,22; 18,89; -4,31.

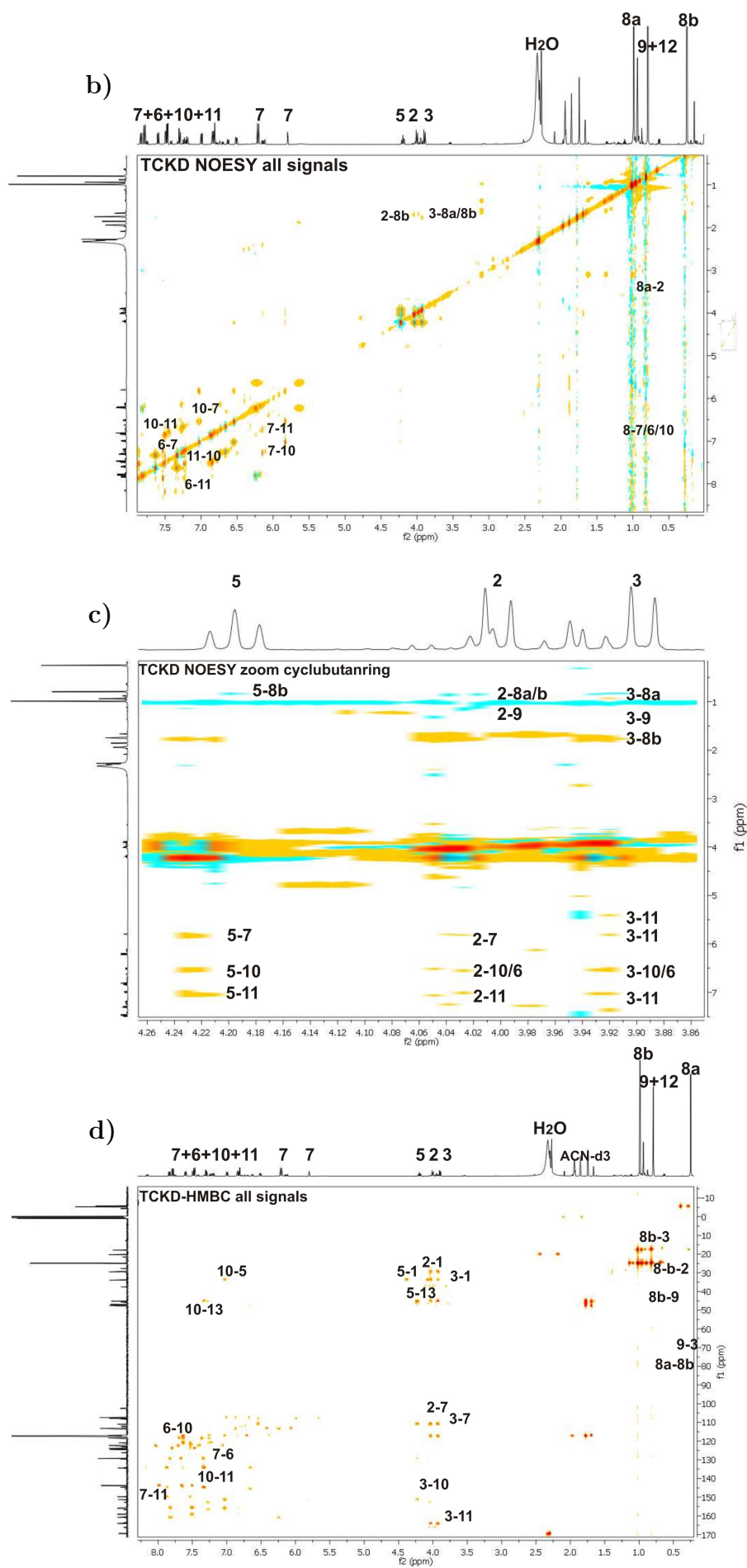
**LC/MS (ESI): m/z ( $M^+$ ):**

berechnet 606,24 g/mol; gefunden 606,8 g/mol.

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 10,92 min.





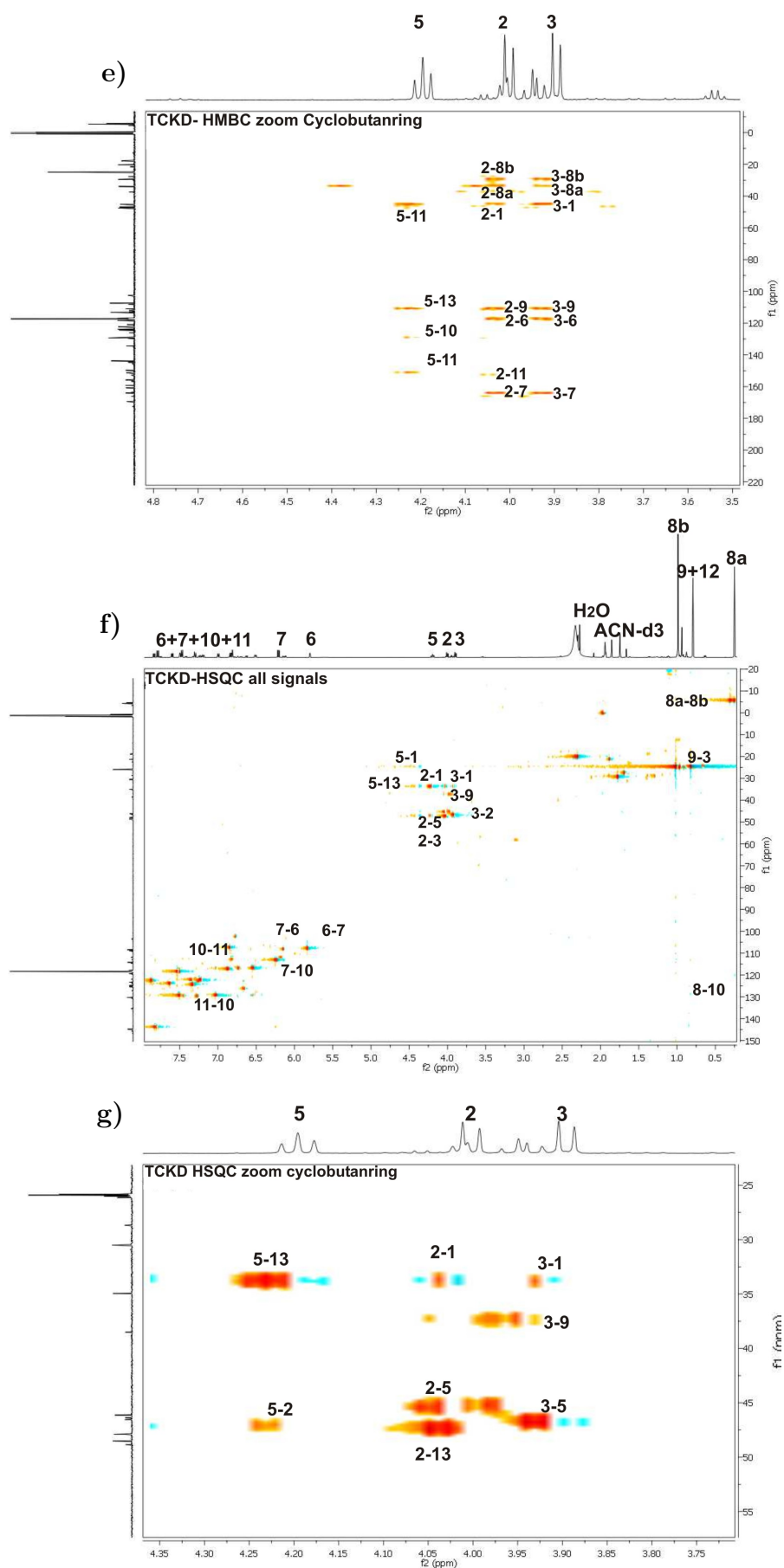
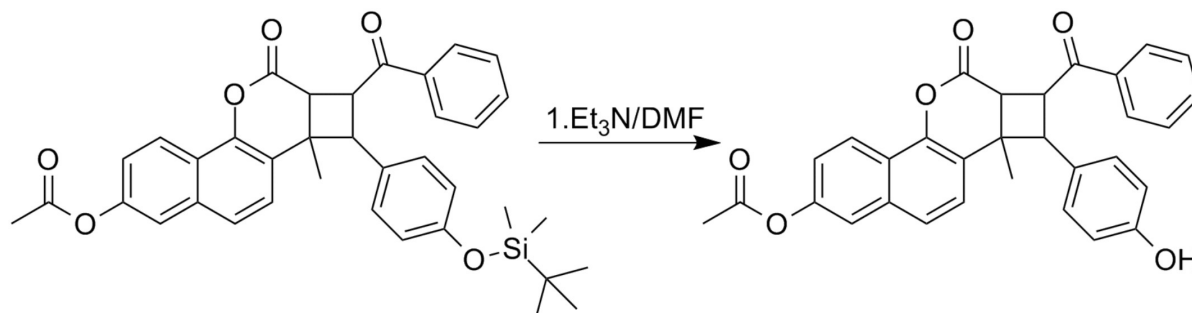


Abbildung 4.11: a)  $^1\text{H}$ -NMR, b) und c) NOESY, d) und e) HMBC und f) und g) HSQC Spektren von TCKD.

#### 4.5.13 7-Benzoyl-8-(4-hydroxyphenyl)-8a-methyl-6-oxo-6a,7,8,8a-tetrahydro-6H-benzo[h]cyclobuta[c]chromen-2-yl-acetate-Kreuzdimer (TCKD-OH)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	eq.
<b>TCKD</b>	606,24	0,33	200,00		1,00
<b>Triethylamin (<math>Et_3N</math>)</b>	101,19	1,13		0,16	6,00
<b>Dimethylformamid (DMF)</b>	73,10			1,00	

Wie in Kapitel 4.5.7 bereits beschrieben wurde die TBDMS-Schutzgruppe des COTBS unter milden Bedingungen bei 50 °C unter ständigen Rühren hydrolysiert. Das Kreuzdimer wurde in DMF gelöst und es wurden 158 µl  $Et_3N$  hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur 24 h gerührt und mittels präparativer HPLC unter Verwendung des isokratischen Elutionsgemisch ACN/ $H_2O$  (60/40) gereinigt. Das Elutionsgemisch wurde abrotiert und das Produkt im Hochvakuum getrocknet. Es wurden 129,44 mg (0,26 mmol, 86 %) eines braunen Feststoffs erhalten.

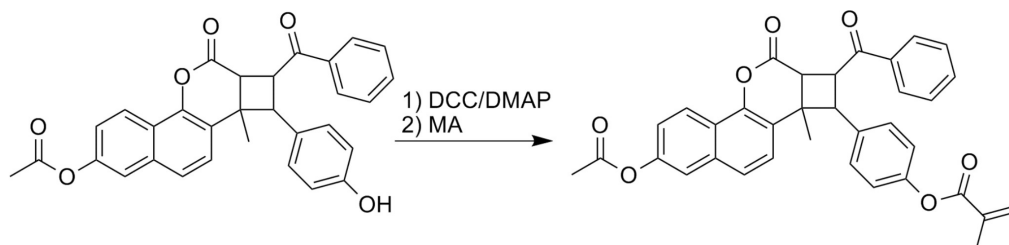
#### LC/MS (ESI): $m/z$ ( $M^+$ ):

berechnet 492,16 g/mol; gefunden 515,23 g/mol.

#### HPLC-Messung:

Retentionszeit ACN/ $H_2O$  (75/25) 10,84 min.

#### 4.5.14 4-(2-Acetoxy-7-benzoyl-8a-methyl-6-oxo-6a,7,8,8a-tetrahydro-6H-benzo[h]cyclobuta[c]chromen-8-yl)phenyl methacrylat (TCKD-MA)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	eq.
<b>TCKD-OH</b>	492,16	0,20	100,00		1,00
<b>Triethylamin (N'N'-)</b>	206,33	0,35	71,23		1,70
<b>Dicyclohexylcarbodiimid</b>					
<b>4-(Dimethylamino)pyridin</b>	122,17	0,06	7,45		0,30
<b>Methylmethacrylat</b>	100,12	0,26		0,03	1,3
<b>Dichlormethan (anhydrous)</b>	84,93			80,00	

Wie in Kapitel 4.5.8 beschrieben wurde über die Steglichveresterung eine Methacrylatgruppe an die freie Hydroxylgruppe des Chalkons kovalent gebunden. Nachdem unter Schutzgas das Methylmethacrylat zugegeben wurde, wurde die Lösung für 24-48 h gerührt. Anschließend wurde das Produkt durch Ausschütteln gegen 5% ige  $NaHCO_3$  gereinigt. Nachdem das Lösungsmittel destilliert wurde, wurden 105 mg (0,19 mmol, 84 %) des orange-braunen Produktes TCKD-MA erhalten.

#### $^1H$ NMR (300 MHz, $CDCl_3$ ) $\delta/ppm$ :

8,15 (d,  $J=8,6$  Hz, 1H, H-Ar); 7,69 (d,  $J=8,9$  Hz, 1H, H-Ar); 7,21-7,16 (m, 2H, H-Ar); 7,12 (dd,  $J=8,9$ Hz,  $J=5,8$  Hz 3H, H-Ar); 7,07 (d,  $J=8,5$  Hz, 1H, Ma-H); 6,96 (d,  $J=7,1$  Hz, 1H, Ma-H); 6,70 (d,  $J=8,9$  Hz, 2H, Ma-H); 6,20 (d,  $J=8,6$  Hz, 1H, Cycloar-H); 4,65 (dd,  $J=10,1$ ; 9,0; 1H, Cyclobutanring-H); 3,85 (d,  $J=10,2$ ; 1H, Cyclobutanring-H); 3,76 (d,  $J=8,9$ ; 1H, Cyclobutanering-H); 1,77 (q,  $J=7,3$  Hz, 2H, MA- $CH_2$ ); 1,64 (s, 3H, MA- $CH_3$ ); 1,48 (dd,  $J=15,0$  Hz,  $J=7,5$  Hz, 3H, acetyl- $CH_3$ ); 0,96 (t,  $J=7,4$  Hz, 3H,  $CH_3$ -BC).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO-d6)  $\delta$ /ppm:**

196,64; 171,37; 167,20; 163,93; 158,76; 148,04; 146,38; 137,71; 135,96; 132,30; 129,52;  
128,95; 128,77; 128,47; 127,62; 119,82; 120,68; 119,32; 116,15; 116,01; 107,60; 102,56;  
102,21; 102,61; 101,47; 68,59; 56,28; 45,34; 45,54; 42,86; 31,74; 29,69; 19,78; 13,97.

**LC/MS (ESI): m/z ( $\text{M}^+$ ):**

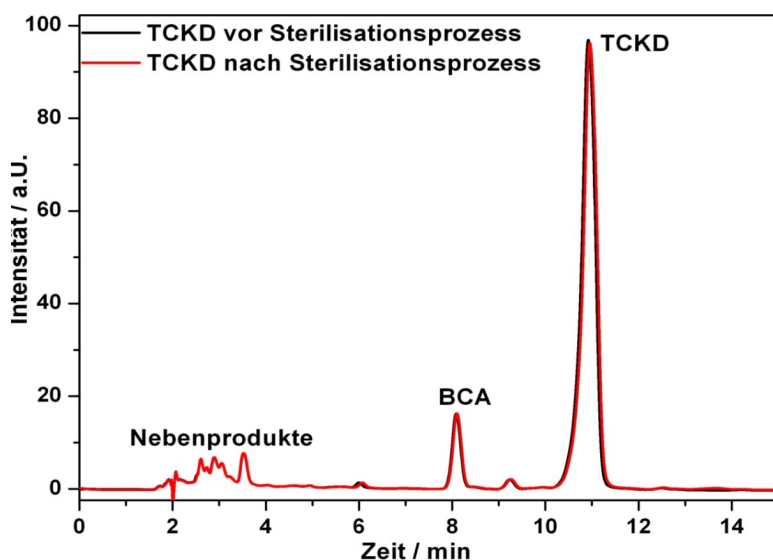
berechnet 560,18 g/mol; gefunden 473,15 g/mol ( $\text{M}^+$ -Acetylschutzgruppe, +  $\text{Na}^+$ ).

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 30,02 min.

#### 4.5.15 Photochemische kontrollierte Copolymerisation von TCKD-MA an HEMA/MMA-Mischung

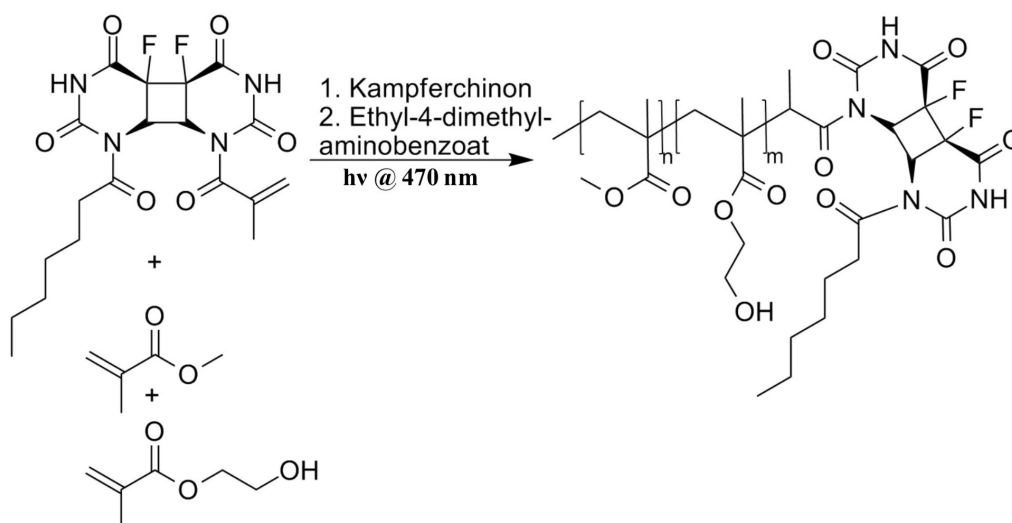
Das Kreuzdimer TCKD-MA löste sich nur sehr schlecht in der Standardpolymermischung. Aus diesem Grund wurde die Polymermischung langsam auf 46 °C erwärmt und unter Schutzgas das Kreuzdimer eingerührt. Um zu verhindern, dass das Kreuzdimer während der photochemischen Polymerisation kristallisiert, wurde die Polymerisation bei 80 °C im Trockenschrank durchgeführt. Um sicherzugehen, dass das Kreuzdimer thermisch stabil war, wurde es vorher wie in Kapitel 4.2.8 autoklaviert und jeweils vor und nach dem Vorgang eine HPLC-Messung (Abb. 4.12) durchgeführt. Die LED für die photochemische Polymerisation wurde vor dem Trockenschrank (Glastür) positioniert, sodass eine photochemische Polymerisation nach Kapitel 4.6.2 gewährleistet wurde, um ein zum CKD-Polymer vergleichbare Zusammensetzung zu erhalten.



**Abbildung 4.12:** HPLC-Messung des Kreuzdimers vor und nach dem Autoklavieren bei 121°C und 2 bar. Elutionsmittel ACN/H<sub>2</sub>O (75/25).

## 4.6 Polymerisation

### 4.6.1 Photochemische Polymerisation

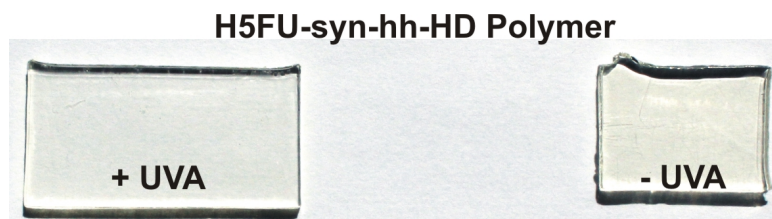


	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$Soll\%$
Hydroxymethacrylat (HEMA)	130,14	17,28	2.249,00	2,10	84,68
Methylmethacrylat (MMA)	100,12	3,12	312,00	0,33	11,75
Ethylenglykoldimethacrylat (EGDMA)	198,22	0,13	26,00	0,03	0,98
Kampferchinon	166,22	0,01	2,00		0,09
Ethyl-4-dimethylaminobenzoat	193,24	0,01	2,00		0,09
8'-H5FU-syn-hh-MA-HD	440,15	0,15	65,00		2,45

Die einzelnen Monomerkomponenten, bestehend aus HEMA, MMA und EGDMA wurden zunächst in einen Kolben gegeben und gerührt. Dann wurden die Photostarter hinzugegeben, kräftig gerührt bis eine homogene gelbe Lösung entstand. Diese Polymermischung wurde unter Argon zum Stickstoffkolben zugegeben, der das Homodimer enthielt. Die Mischung wurde gerührt, zwei Minuten im Ultraschallbad beschallt, in flüssigen Stickstoff eingefroren und im Hochvakuum entgast. Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt.



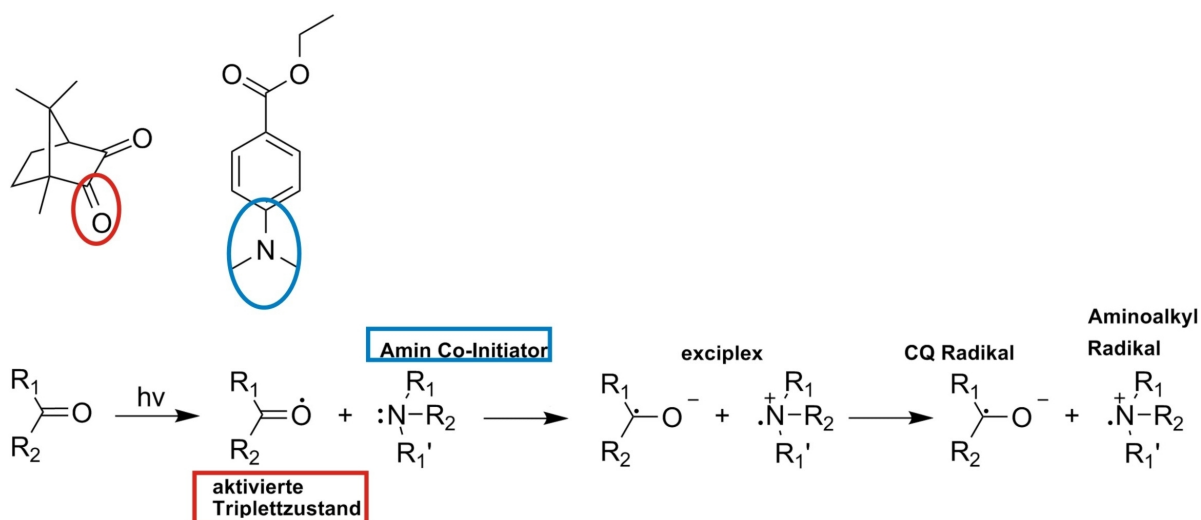
Diese Monomermischung wurde in einer Polymerisationsform gespritzt. Diese Form bestand aus zwei Glasplatten. Die dritte Schicht war die eigentliche Polymerisationsform. Diese war eine Silikonschicht die auf die entsprechende Größe zugeschnitten wurde. Das Beispiel aus der Tabelle bezieht sich auf H5FHU-HD, für insgesamt 2,6 g Polymermischung wurde eine Form der Größe 3,6 cm  $\times$  3,6 cm  $\times$  0,25 cm zugeschnitten.



**Abbildung 4.13:** a) Wirkstoffbeladene Polymerplatten mit H5FU-syn-hh-HD, die mit und ohne UV-Absorber copolymerisiert wurden.

Bevor die Polymermischung in die Form gespritzt wurde, wurde diese fünf Minuten mit Argon entgast. Im Anschluss wurde die Polymermischung in die Form gespritzt und diese mit Parafilm verschlossen. Die Polymerisation wurde durch eine Lichtquelle bestehend aus 49 Dioden (Roithner Lasertechnik *HUUV – 5101L*), die auf einer Gesamtfläche von 7,0 cm  $\times$  7,0 cm angebracht waren, durchgeführt. Die Dioden erzeugten Licht im Wellenlängenbereich bei 470 nm und wurden in einem Abstand von 8 cm vor dem Polymergemisch positioniert.

Als Radikalstarter wurden Campherchinon und Ethyl-4-dimethylaminobenzoat verwendet. Diese können sowohl einzeln, als auch zusammen reagieren, um eine höhere Polymerisationsrate zu erhalten. Das tertiäre Amin von Ethyl-4-dimethylaminobenzoat initiiert bei diesem System die Radikalbildung des Campherchinons. Hierbei überträgt dieses Amin ein Elektron und danach ein Proton auf das Campherchinon.

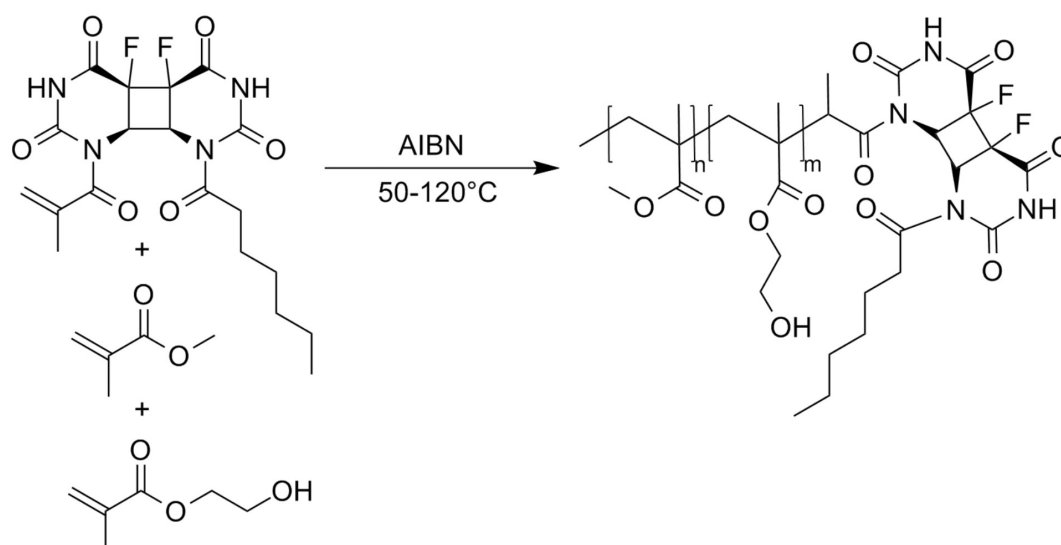


**Abbildung 4.14:** Photochemisch induzierter Photopolymerisationsprozess

Zur Homogenisierung des Lichtes wurde eine Milchglasscheibe direkt vor die LEDs platziert (8,0 cm × 8,0 cm × 0,45cm). Die Polymerisationsform wurde mit einem Abstand von 12,0 cm von der Lichtquelle aufgestellt. Die Mischung wurde 30 min mit halber Potentiometer-Einstellung bestrahlt, anschließend 40 min ohne Bestrahlung ruhen gelassen und danach 150 min mit voller Leistung polymerisiert. Das Polymer verfärbte sich von gelb nach transparent, was ursächlich der Reduktion des Campherchinons während der Polymerisation ist. Das Polymer wurde mit Handschuhen entnommen noch einmal fixiert und weitere 10 min bestrahlt, damit auch die Ränder vollständig polymerisieren.

In manchen Mischungen wurde noch UV-Absorber hinzugegeben (1 %, 2(4-benzoyl-3-hydroxy-phenoxy)ethyl-acrylate (BHP-EA)). Mit dieser Methode wurden 5-FU-syn-hh-HD- (mit UV-Absorber 2,4 g ohne UV-Absorber 2,6 g), CFKD- (mit UV-Absorber 5 g ohne UV-Absorber 8 g) und TCKD-Polymere (5,4 g) erzeugt.

### 4.6.2 Thermische Polymerisation

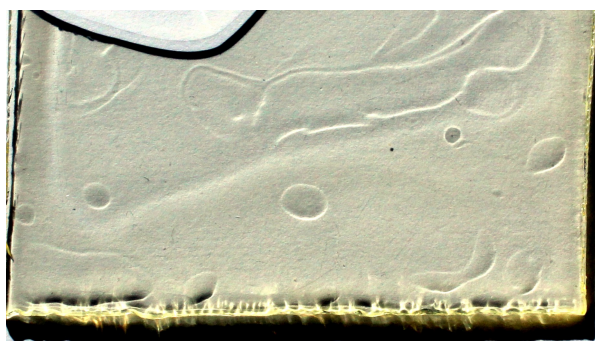


	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$Soll\%$
Hydroxymethacrylat (HEMA)	130,14	17,28	2.249,00	2,10	84,68
Methylmethacrylat (MMA)	100,12	3,12	312,00	0,33	11,75
Ethylenglykoldimethacrylat (EGDMA)	198,22	0,13	26,00	0,03	0,98
Azo-bis-isobutyronitril (AIBN)	164,21	0,01	2,00		0,09
8-H5FU-syn-hh-MA-HD	440,15	0,15	65,00		2,45

Die Monomerkomponenten HEMA, MMA und EGDMA wurden in einen Kolben gegeben und gerührt. Anschließend wurde der Initiator AIBN hinzugegeben und gerührt bis eine klare homogene Mischung entstand. Diese Monormischung wurde unter Argonstrom dem Homodimer enthaltenden Stickstoffkolben hinzugegeben und kräftig gerührt. Die Mischung wurde gerührt, zwei Minuten im Ultraschallbad beschallt in flüssigen Stickstoff eingefroren und im Hochvakuum entgast. Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt.

Die Monormischung wurde wie in Kapitel 4.6.1 in eine Polymerisationsform gegeben und weiterverarbeitet. Das Beispiel dargestellt in der Tabelle bezieht sich auf H5FHU-

HD, für insgesamt 6,3 g Polymermischung wurde eine Form mit  $5,0\text{ cm} \times 5,0\text{ cm} \times 0,25\text{ cm}$  zugeschnitten.

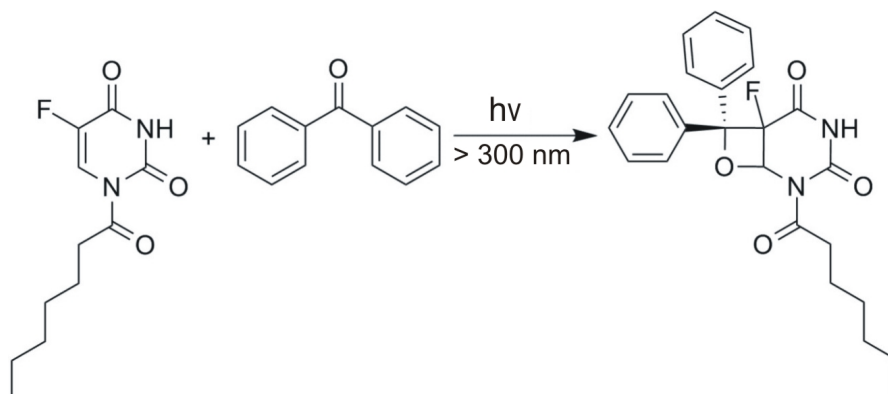


**Abbildung 4.15:** Thermisch erzeugtes Polymer mit einpolymerisierten H5FU-syn-hh-HD

Bevor die Polymermischung in die Form gespritzt wurde, wurde diese 5 Minuten mit Argon entgast. Im Anschluss wurde die Polymermischung in die Form gespritzt und diese mit Parafilm verschlossen. Die Polymerisation wurde durch ein Temperaturprogramm gestartet (Polymerisationsstart bei  $60^{\circ}\text{C}$  24 h, polymerisiert für 48 h bei  $120^{\circ}\text{C}$ ).

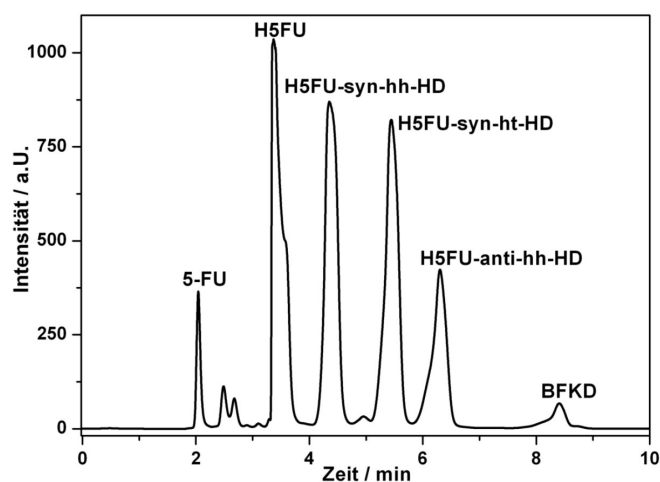
Mit diesem Verfahren wurde nur das H5FU-syn-hh-HD Copolymer erzeugt, um zu testen ob durch die geringe Wasserlöslichkeit der Homodimere eine Copolymerisation ausreicht.

## 4.7 6-Fluoro-2-heptanoyl-7,7-diphenyl-8-oxa-2,4-diazabicyclo[4.2.0]octane-3,5-dione (BFKD)



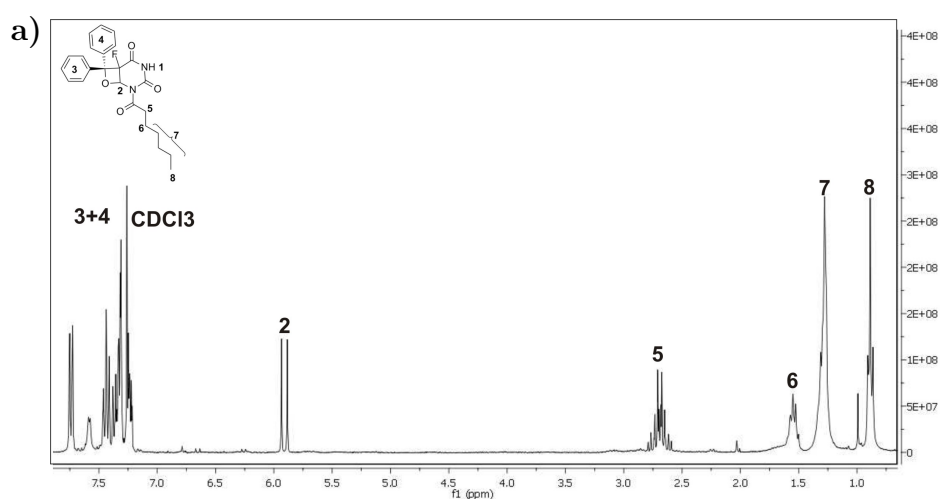
	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
Heptanoly-5-Fluoruracil	242,25	33,02	8,00		1,00
Benzophenon	338,17	1,89	0,64		0,10
Chlorofom oder	119,38			80,00	
Acetontiril	41,05			80,00	

Das Kreuzdimer, das durch die photochemische Paternò-Büchi-Reaktion erzeugt wurde, entstand durch eine Nebenreaktion und ist somit ein nicht gewünschtes Nebenprodukt, das bei allen photochemischen Reaktionen im Rayonet-Reaktor entstanden ist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die verwendeten Quecksilber-Lampen auch im Wellenlängenbereich  $> 400$  nm Licht emittieren, was die Bildung von cyclischen Oxetanen, wie in Kapitel 3.14 beschrieben, hervorruft. Die Reaktionsdauer betrug 24-72 h und wurde durch entsprechende HPLC-Messungen kontrolliert.



**Abbildung 4.16:** Reaktionskontrolle der [2+2]-Cycloadditionsreaktion mittels HPLC. a) Komplettes Chromatogramm der Reaktionslösung mit Elutionsmittelzusammensetzung 75/25 ACN /H<sub>2</sub>O. Retentionszeiten: 5-FU 2,01 min, H5FU 3,25 min, H5FUHD-Isomere 4,2 min - 6,08 min, BFKD 8,41 min.

Die Suspensionen der einzelnen Reagenzgläser wurden in einem Stickstoffkolben vereint und das Chloroform abrotiert. Anschließend wurde das orange-rötliche Rohprodukt im Hochvakuum getrocknet, lichtgeschützt und unter Schutzgas gelagert. Gereinigt wurde das Rohprodukt mit Hilfe der präoperativen HPLC. Dafür wurden jeweils 300 mg in 5,5 mL Acetonitril gelöst und durch einen isokratischen Gradienten mit den Anteilen 75/25 ACN/Wasser (Wasser war mit 10 µl H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> konz. angesäuert) als Elutionsmittel gereinigt. Es wurden 140 mg des orangenen Feststoffs BFKD erhalten (0,33 mmol, 12,5 %). Die absolute Konfiguration des Kreuzdimers wurde mit Hilfe von verschiedenen 2D-NMR Messungen bestimmt. Hierfür wurden NOESY und HMQC-Messungen durchgeführt.



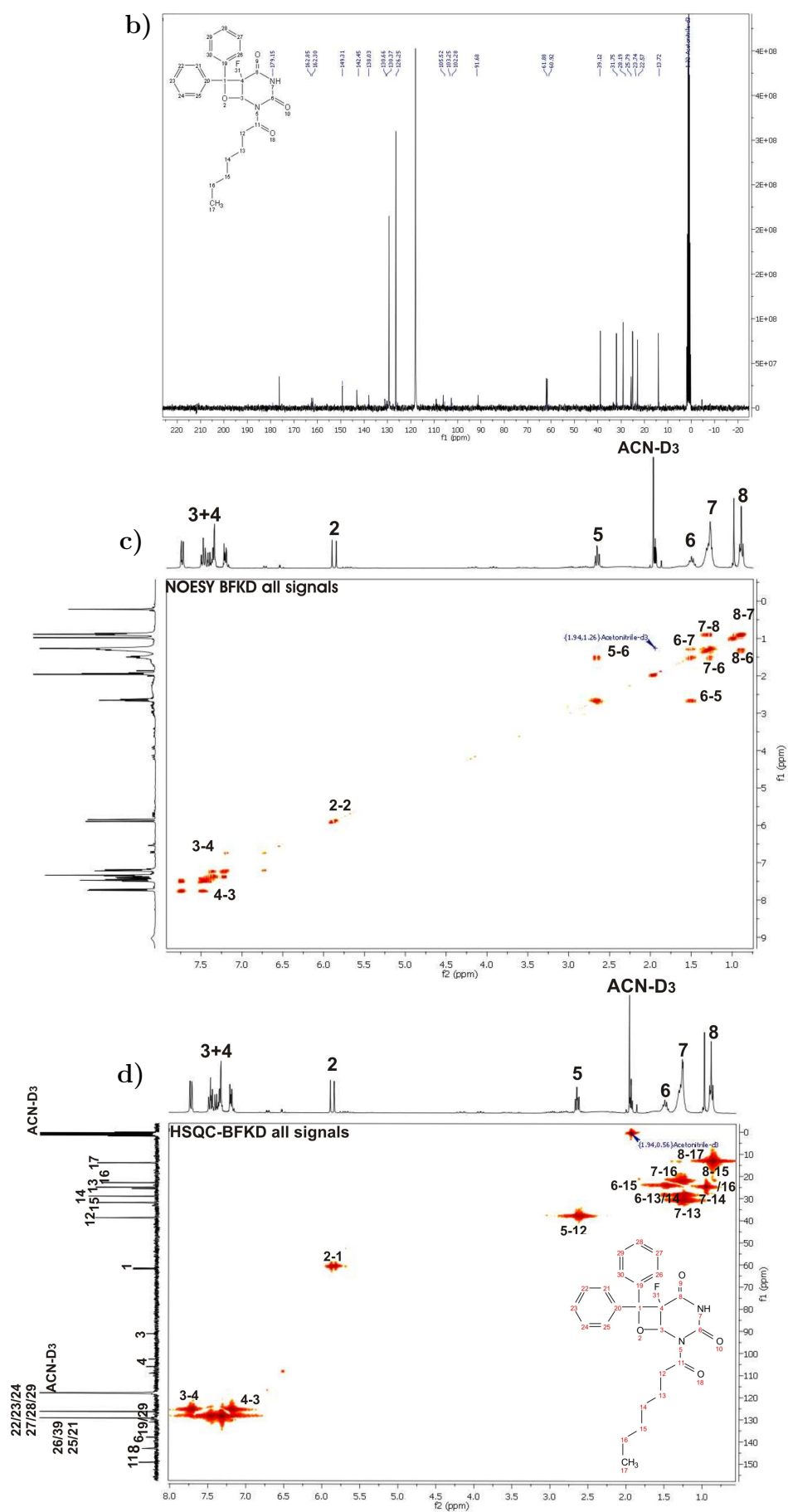


Abbildung 4.17: NMR-Spektren der Verbindung BFKD. a)  $^1\text{H}$ -NMR, b)  $^{13}\text{C}$ -NMR, c) NOESY und d) HSQC.

**NMR-Daten von BFKD:** **$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ :**

9,02 (s, 1H, NH); 7,75 (d,  $J=1,5$  Hz, 1H, H-Ar); 7,74-7,35 (m, 1H, H-Ar); 7,33 (d,  $J=1,6$  Hz, 1H, H-Ar); 7,31 (dd,  $J=2,1$ , 1H, H-Ar); 7,23 (dd,  $J=6,7$  Hz,  $J=3,0$  Hz, 2H, H-Ar); 5,91 (d,  $J=15$  Hz, Oxetan-H); 2,88-2,49 (m, 2H, Heptanoyl-H); 1,71-1,46 (m, 3H, Heptanoyl-H); 1,33-1,25 (m, 6H, Heptanoyl-H); 0,89 (t,  $J=6,7$  Hz, 3H, Heptanoyl-H).

 **$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, Acetonitrile- $\text{d}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ :**

176,58; 162,68; 162,25; 161,96; 149,58; 143,41; 138,26; 131,45; 129,68; 129,61; 129,69; 109,45; 106,39; 102; 98; 91,52; 62,27; 61,91; 39,16; 32,29; 29,40; 25,96; 25,39; 23,24; 14,35.

 **$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ :**

-105,8.

**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):**

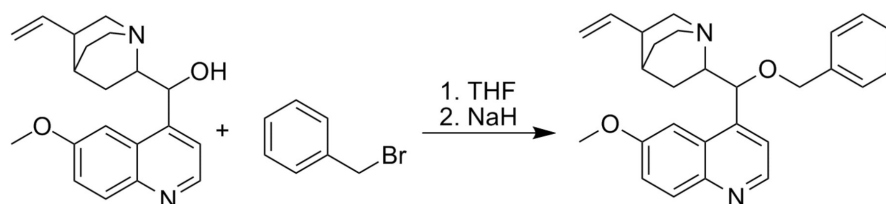
berechnet 424,18 g/mol; gefunden 312,6 g/mol ( $\text{M}^+$ -Heptanoyl-Schutzgruppe).

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 8,41 min.



## 4.8 2-Benzyl-Chinin (CBZ)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
Chinin anhyd.	324,42	7,71	2,50		1,00
Natriumhydrid 60 %	60,00	15,42	0,53		2,00
Benzylbromid	171,03	11,57		1,38	1,50
Tetrahydrofuran (THF)	72,11			150,00	

Für diese Reaktion wurde Chinin in einen Stickstoffkoben eingewogen und anschließend unter Schutzgasatmosphäre in THF gelöst. Die Lösung wurde auf 0°C gekühlt. Anschließend wurde unter Schutzgas langsam Natriumhydrid zugegeben und für 1 h gerührt. Über einen Tropftrichter wurde langsam das Benzylbromid zugetropft.

Nach 24 h Reaktionszeit wurde die Lösung vorsichtig mit 0,1 M NaOH-Lösung neutralisiert. Die Wasser/THF Lösung wurde abrotiert, der gelblich ölige Rückstand wurde in 150 mL Chloroform resuspendiert und zweimal gegen NaHCO<sub>3</sub> ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abrotiert und es wurden 2,43 g eines roten Feststoffs (80 %, 5,87 mmol) erhalten.

### NMR-Daten von CBZ:

#### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm:

8,67 (d, J= 4 Hz, 1H, H-Ar); 7,92 (d, J= 9,2 Hz, 1H, H-Ar); 7,56 (d, J=4,2 Hz, 2H, H-Ar); 7,38 (dd, J=9,2Hz, J=2,7 Hz, 1H, H-Ar); 5,87 (d, J=10,3 Hz, 1H H-Ar); 5,64 (d, J=5,0 Hz, 1H H-Ar); 5,70 (m, 1H, H-Ar); 5,23 (dd, J=6,8 Hz, J=5,3 Hz, 2H); 5,05-4,81 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-Benzyl-O); 4,93 (dd, J=6,6 Hz, 5,5 Hz 2H); 3,89 (m, 3H, CH<sub>3</sub>); 3,37 (s, 4H, CH<sub>3</sub>, Quinuclidin); 3,06 (dd, J= 15,5 Hz, 7,7 Hz, 1H); 2,85 (dd, J 13,5 Hz, 10,0Hz, 1H); 2,41 (m, 2H, Quinuclidin); 2,8 (s, 1H); 1,78-1,69 (m, 3H, Quinuclidin); 1,67-1,60 (m, 2H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ :**

156,77; 149,31; 147,49; 143,92; 142,59; 138,02; 131,12; 128,15; 127,09; 120,91; 114,94; 119,12; 114,04; 192,51; 82,81; 70,99; 60,25; 55,91; 48,38; 41,77; 27,49; 27,45; 26,18; 25,59; 24,13.

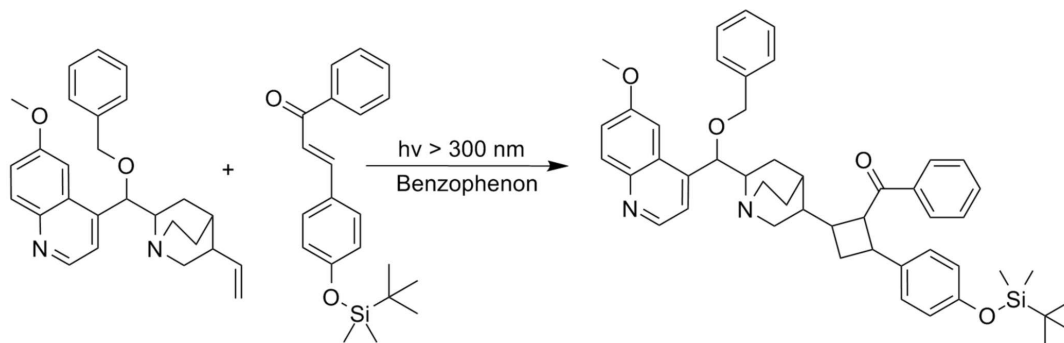
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):**

berechnet 414,23 g/mol; gefunden 406,01 g/mol ( $\text{M}^+$ ).

**HPLC-Messung:**

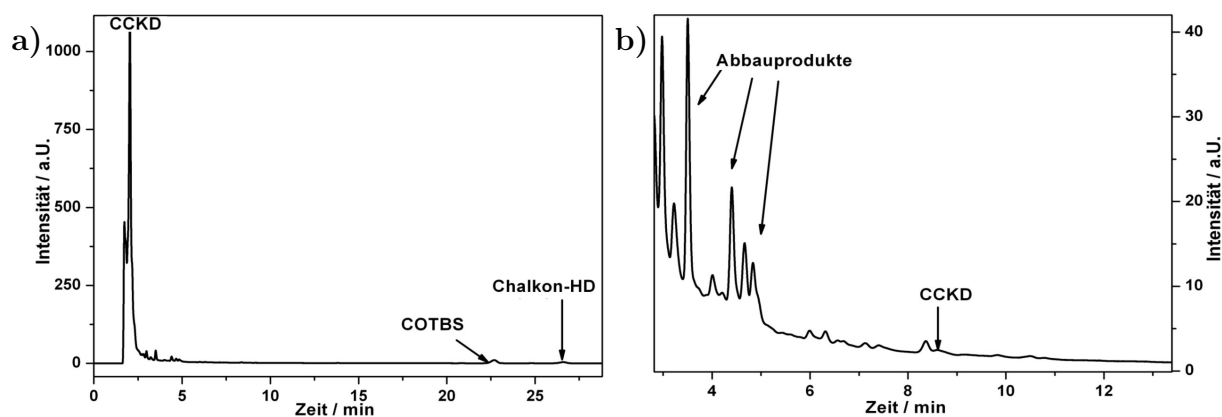
Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 2,51 min.

## 4.9 4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon - 2-Benzyl-Chinin (CCKD)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
2-Benzyl-Chinin	414,23	24,14	10,00		1,00
4-tert-Butyldimethylsilyloxy-chalkon (COTBS)	338,17	1,41	0,48		0,06
Benzophenon	182,22	0,26	0,06		0,001
Chloroform	119,38			80,00	

Die photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition wurde wie in Kapitel 1.3 beschrieben mit Hilfe des Rayonet-Reaktors durchgeführt. Die Reaktionsdauer betrug 96-120 h. Die Reaktion wurde beendet, sobald keine Änderung bei dem Kreuzdimer-Anteil durch entsprechende HPLC-Messungen mehr festgestellt wurden (Abb. 4.18).



**Abbildung 4.18:** Reaktionskontrolle der [2+2]-Cycloadditionsreaktion mittels HPLC. a) Komplettes Chromatogramm b) Zoom der Kreuz- und Homodimere, der Reaktionslösung mit dem Elutionsmittelgemisch ACN/H<sub>2</sub>O (80/20). Retentionszeiten: Trizyklus (CBZ) 2,21 min, Abbau- und Nebenprodukte 2,65-5,12min, COTBS 22 min und 26 min.

Gereinigt wurde das Rohprodukt mit Hilfe einer präparativen HPLC. Dafür wurden jeweils 250 mg in 5,5 mL Acetonitril gelöst, mit einem PTFE-Filter (0,45 µm) gefiltert und durch einen isokratischen Gradienten mit den Anteilen 70/30 ACN/Wasser (angesäuert mit 300 µL konz. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) als Elutionsmittel aufgereinigt. Es wurden 25 mg des rot-orangen Feststoffs CCKD erhalten (0,58 mmol, 12,4 %).

Aufgrund der Tatsache dass bei dieser [2+2]-Cycloadditionsreaktion nur sehr geringe Ausbeuten erzielt wurden und dass keine Isolation des reinen Kreuzdimers möglich war, da Abbau- und Nebenprodukte trotz präparativer Aufreinigung nicht voneinander zu trennen waren. Musste die Identifizierung des Kreuzdimers durch die Analyse mit Hilfe von Massenspektroskopie und HPLC-Messungen erfolgen.

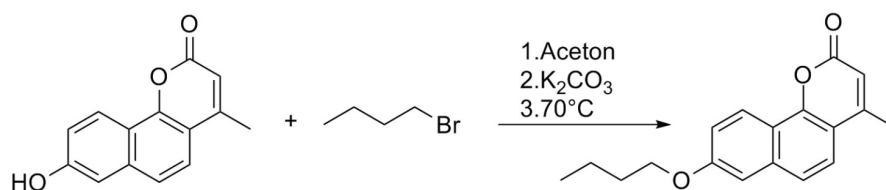
#### LC/MS (ESI): $m/z$ ( $M^+$ ):

berechnet 638,31 g/mol; gefunden 643,4 g/mol.

#### HPLC-Messung:

Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (80/20) 8,67 min.

## 4.10 8-butoxy-4-methyl-benzochromen-2-one



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
8-hydroxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on (BC)	226,06	26,71	6,04		1,00
Brombutan	137,03	53,40	7,32		2,00
Kaliumcarbonat	20,10	128,20	0,05		0,02
Aceton	58,08			0,62	

Mit Hilfe der Williamsonschen Ethersynthese wurde das 8-Hydroxy-Benzochromen geschützt. Unter Schutzgasatmosphäre wurde BC zunächst in Aceton gelöst und danach Kaliumcarbonat hinzugegeben. Dabei verfärbte sich die Lösung von dunkelgrün auf ein gelbliches grün.

Nach 24 h wurde die Lösung heiß filtriert und mit heißem Aceton gewaschen. Die daraus resultierende Lösung wurde mittels Rotationsverdampfer eingengt und der daraus resultierende gelbe Feststoff wurde am Hochvakuum für weitere 2 h getrocknet. Es wurden 6,5 g eines gelben Feststoffs (23,03 mmol, 89,68 %) erhalten.

### NMR-Daten von CBZ:

#### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm:

8,28 (d, J=9,2 Hz, 1H); 7,76 (s, 2H); 7,49 (d, J=2,4 Hz, 1H); 7,34 (dd, J=9,2Hz, 2,5 Hz, 1H); 6,43 (d, J=1,2 Hz); 4,16 (t, J=6,5 Hz, 2H); 3,34 (s, 3H); 1,86-1,72 (m, 2H); 1,51 (dd, J=14,8 Hz, 7,3 Hz, 2H); 0,98 (t, J=7,4 Hz, 3H).

#### <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ/ppm:

163,47; 156,31; 153,79; 152,88; 135,51; 135,51; 125,35; 124,97; 122,97; 119,65; 114,68; 112,51; 88,81; 67,94; 30,60; 18,71; 18,61; 13,66.

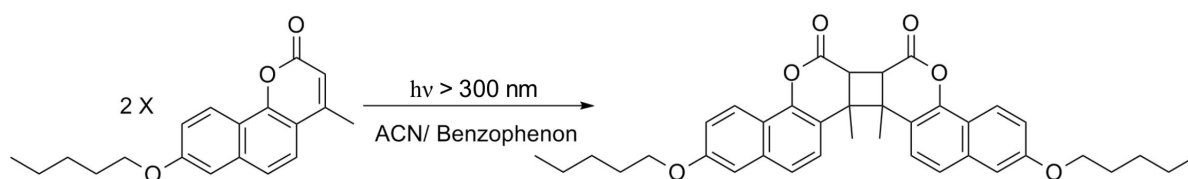
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 282,13 g/mol; gefunden 283,4 g/mol.

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 5,15 min.

## 4.11 4-methyl-8-(pentyloxy)-benzochromen-2-one Homodimer (BCH)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
8-hydroxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on (BBC)	282,13	28,35	8,00		1,00
Benzophenon	182,22	1,54	0,28		0,01
Chloroform	119,38			80,00	

Die [2+2]-Cycloadditions-Reaktion wurde wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben mit Hilfe des Rayonet-Reaktors durchgeführt. Die Reaktionsdauer betrug 96-120 h. Es konnten zwei Isomere identifiziert werden. Allerdings konnte nur eines für nachfolgende NMR Messungen isoliert werden (30,16 min). Gereinigt wurde das Rohprodukt mit Hilfe einer präparativen HPLC. Dafür wurden jeweils 200 mg in 5,5 mL Acetonitril gelöst, mit einem PTFE-Filter (0,45  $\mu m$ ) gefiltert und durch einen isokratischen Gradienten mit den Anteilen 75/25 ACN/H<sub>2</sub>O (0,3 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) als Elutionsmittel gereinigt. Es wurden 100 mg des gelb-grünen Feststoffs TCHD erhalten (0,17 mmol, 48,51 %).

**NMR-Daten von CBZ:** **$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ :**

8,36 (d,  $J=9,2$  Hz, 1H); 7,92 (d,  $J=8,9$  Hz, 1H); 7,73 (s, 1H); 7,56 (s, 1H); 7,56 (s, 2H); 7,40 (dd,  $J=8,9$  Hz, 5,4 Hz, 2H); 7,17 (d,  $J=8,7$  Hz, 3H); 7,01-6,97 (m, 2H); 6,85 (dd,  $J=9,2$  Hz, 2,5 Hz, 3H); 6,42 (d,  $J=1,2$  Hz, 1H); 4,36-4,26 (m, 1H); 4,17 (t,  $J=6,4$  Hz, 2H); 4,07 (t,  $J=6,8$  Hz, 1H); 3,92 (t,  $J=6,6$  Hz, 4H); 3,79 (s, 2H); 1,75 (s, 7H); 1,65 (dd,  $J=14,7$  Hz, 6,5 Hz, 5H); 1,42 (dt,  $J=14,7$  Hz, 7,4 Hz, 6H); 0,96-0,88 (m, 6H).

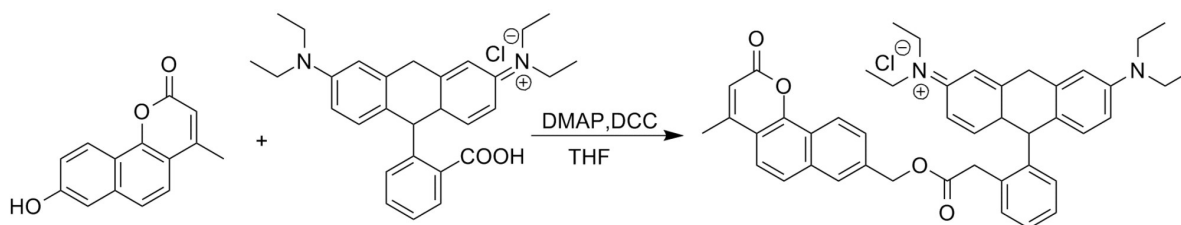
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):**

berechnet 592,28 g/mol; gefunden 593,1 g/mol.

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 28,5 min; 30,16 min.

## 4.12 Steglich-Veresterung von Rhodamin an 8-hydroxy-4-methyl-2H-benzo[h]chromen-2-one (BC) zu RHO-BC



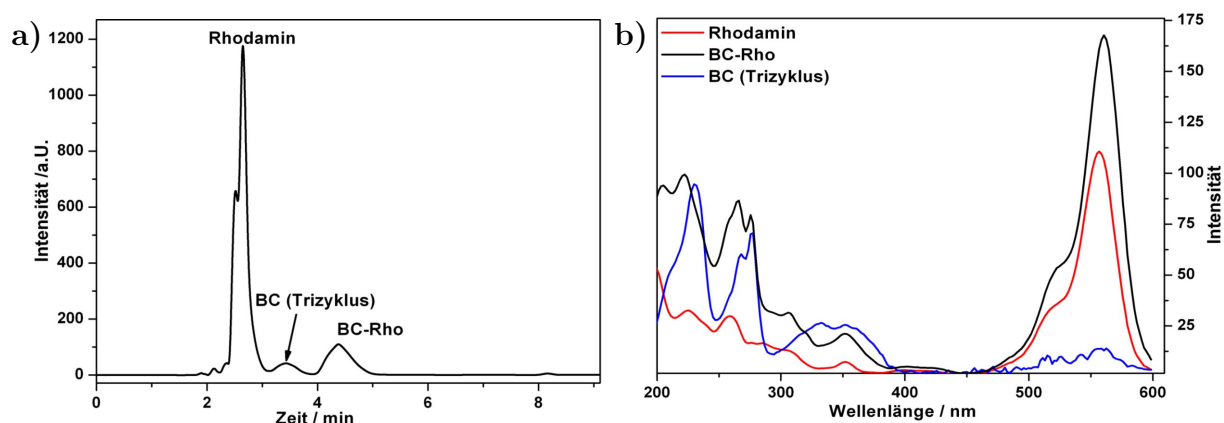
	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
BC	226,06	8,84	2,00		1,00
Rhodamin-B	479,02	7,07	3,39		0,80
N'N'- Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)	206,33	15,40	2,06		1,10
4-(Dimethylamino)pyridin	122,17	2,65	0,33		0,30
THF	72,11			200,00	

Für diese Reaktion wurde BC in einen Stickstoffkolben eingewogen und unter Schutzgas in 200 mL THF gelöst. Anschließend wurde DCC und DMAP unter Argonstrom hinzugegeben und 15 min gerührt. Danach wurde unter Schutzgasatmosphäre das Rhodamin hinzugegeben und die purpurne Lösung 24 h Stunden gerührt.

Die Reaktionskontrolle erfolgte mittels HPLC (Abb. 4.19. Dabei konnte festgestellt werden dass die Veresterung erfolgreich durchgeführt wurde, allerdings nach weiteren 24 h und zusätzlichen DCC/DMAP kein weiterer Umsatz nachgewiesen werden konnte.

Aufgrund der geringen Ausbeute von 14 % und schwieriger Isolierung des Produktes mittels präparativer HPLC, wurde die Synthese des Kreuzdimers TCKD, wie in Kapitel 3.12 bereits beschrieben, weiterverfolgt.





**Abbildung 4.19:** a) Reaktionskontrolle der Steglich-Veresterung nach 24 h. b) DAD-Signale der einzelnen Peaks.

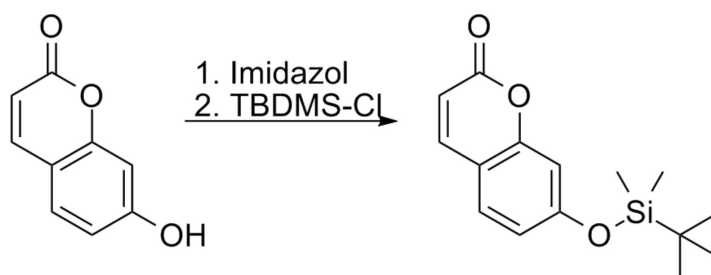
**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 650,31 g/mol; gefunden 651,6 g/mol ( $M^+$ ).

**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $H_2O$  (75/25) 2,53 min (Rhodamin); 3,45 min (BC); 4,40 min RHO-BC.

### 4.13 7-Tert-butyldimethylsilyloxy-Coumarin (7-CoumOTBS)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
7-Hydroxycoumarin	162,14	12,30	2,00		1,00
Imidazol	68,08	55,50	3,77		4,50
tert-Butyldimethylsilylchlorid	150,06	24,67	3,70		2,00
Tetrahydrofuran	72,11			150,00	
Chloroform	119,38			200,00	
5 % NaHCO <sub>3</sub> -Lösung				n.B.	

Die Schützung mit TBDMS-Cl wurde bereits in Kapitel 4.5.5 beschrieben und nach folgender Vorschrift durchgeführt. Nach 24 h- 48 h wurde der Reaktionsfortschritt über HPLC-Analyse detektiert und anschließend nach Vorschrift gereinigt.

Dabei wurden 2,21 g eines hellbraunen Feststoffs (80 %, 7,96 mmol) erhalten.

#### NMR-Daten von 7-CoumOTBS:

##### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ /ppm:

7,99 (d, J=9,5 Hz, 1H); 7,61 (d, J=8,3 Hz, 1H); 6,82 (dt, J= 5,0, 2,1 Hz, 2 H); 6,30 (d, J=9,5 Hz, 1H); 0,94 (s, 9 H); 0,24 (s, 6H).

##### <sup>13</sup>C NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ /ppm:

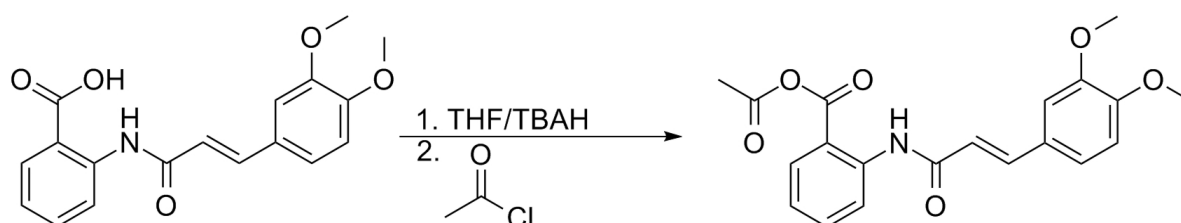
160,8; 156,8; 154,8; 143,5; 129,7; 113,4; 113,1; 25,9; -0,9.

**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $M^+$ ):**

berechnet 276,12 g/mol; gefunden 276,4 g/mol.

**HPLC-Messung:**Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 9,02 min.

## 4.14 Acetic (E)-2-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)acrylamido)Benzoessäureanhydrid (Tranilastacyl)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
Tranilast	327,33	9,17	3,00		1,00
NaOH p.A.	40,00	29,00			
Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAH)	259,48	0,06	0,02		0,01
Acetylchlorid	78,50	14,00		1,00	1,52
(1,4-Dioxan)	88,11			150,00	
Chloroform	119,83			n.B.	

Tranilast, Natriumhydroxid und TBAH wurden in 150 mL THF unter Schutzgasatmosphäre gelöst und für 15 min gerührt. 1 mL Acetylchlorid wurde in 15 mL THF aufgenommen und über 15 min unter Schutzgas langsam hinzuge tropft. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt und anschließend filtriert. Das Lösungsmittel wurde eingedunstet und anschließend wurde das gelbe Rohprodukt in Dichlormethan aufgenommen und mit 5% iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und entionisiertem Wasser gewaschen. Die organische Phase

wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde abrotiert. Es wurden 2,20 g (92,47 % Reinheit, 5,52 mmol; 60,2 %) eines gelben Feststoffs erhalten.

**NMR-Daten von Tranilastacyl:** **$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ :**

8.15 (dd, 1 H,  $J = 1.19, 7.85$  Hz); 7.94 (m, 1 H); 7.76 (d, 1 H,  $J = 16.07$  Hz); 7.61 (m, 2H); 7.49 (d, 1 H,  $J = 1.89$  Hz); 7.37 (dd, 1 H,  $J = 1.86, 8.34$  Hz); 7.05 (d, 1 H,  $J = 8.36$  Hz); 6.96 (d, 1 H,  $J = 16.07$  Hz); 3.86 (d, 6 H,  $J = 15.30$  Hz); 3.63 (d, 1 H,  $J = 12.15$  Hz).

 **$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz, DMSO)  $\delta/\text{ppm}$ :**

159,79; 158,21; 151,90; 150,00; 147,77; 142,34; 137,70; 128,97; 128,32; 127,40; 123,82; 117,59; 112,55; 112,28.

**LC/MS (ESI):  $m/z$  ( $\text{M}^+$ ):**

berechnet 369,4 g/mol; gefunden 372,6 g/mol.

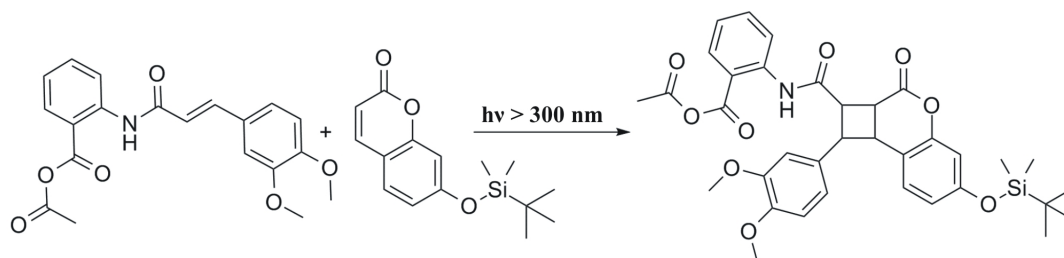
**HPLC-Messung:**

Retentionszeit ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (75/25) 4,2 min.

**Elementaranalyse: Prozentualer Anteil von N, C und O.**

Element	Theorie %	Gefunden %
N	3,79	4,21
C	65,03	68,79
H	5,18	5,05

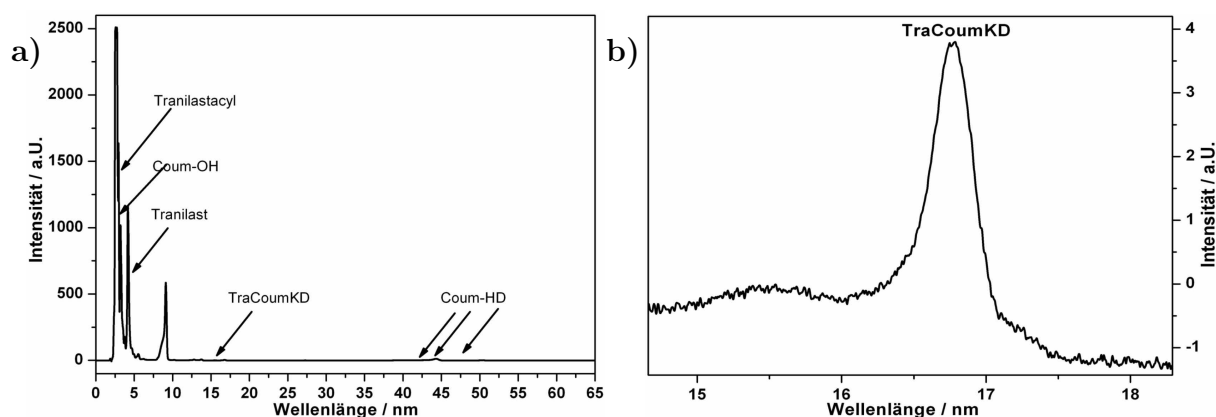
#### 4.15 Acetic 2-(6-(tert-butyldimethylsilyloxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-oxo-2,2a,3,8b-tetrahydro-1H-cyclobuta[c]chromene-2-carboxamido)Benzoessäureanhydrid (TraCoup-KD)



	$M/g \times mol^{-1}$	$n/mmol$	$m/g$	$V/mL$	$eq.$
Tranilastacyl	369,12	13,50	5,00		1,00
7-CoumOTBS	276,12	1,35	0,40		0,10
Benzophenon	182,22	0,15	0,10		0,001
Chloroform	119,83			80,00	

Die Reaktion wurde wie in Kapitel 4.4 beschrieben mit Hilfe des Rayonet-Reaktor durchgeführt. Die Reaktionsdauer betrug 96 h - 120 h. Die Reaktion wurde beendet, als keine Änderung bei dem Kreuzdimer-Anteil mittels HPLC-Messung festgestellt wurde (Abb. 4.20).

Die gelbe Suspensionen der einzelnen Reagenzgläser wurden in einem Stickstoffkolben vereint und das Chloroform abrotiert. Anschließend wurde das gelbe Rohprodukt im Hochvakuum getrocknet und lichtgeschützt unter Schutzgas gelagert. Mit Hilfe der präparativen HPLC konnten 20 mg eines gelben Feststoffes (0,03 mmol, 1,1 %) isoliert werden. Dabei wurde ein isokratischer Gradient von 70/30 ACN/H<sub>2</sub>O verwendet.



**Abbildung 4.20:** Reaktionskontrolle der [2+2]-Cycloadditionsreaktion mittels HPLC. a) Komplettes Chromatogramm der Reaktionslösung mit Elutionslösungsmittelzusammensetzung 75/25 ACN/H<sub>2</sub>O. Retentionszeiten: Umbelliferon 2,01 min, Tranilast 2,57 min, Tranilastacyl 4,17 min, Coumarin-Homodimere 12,0 min, 21,0 min und TraCoup-KD 16,8 min.

Aufgrund der Tatsache, dass nur wenig Produkt isoliert werden konnte war es nicht möglich ein auswertbares <sup>13</sup>C-NMR anzufertigen. Für eine <sup>1</sup>H- und NOESY-Messung reichte die Menge aus, um das Kreuzdimer und die hiesige Konfiguration zu identifizieren.

#### NMR-Daten von TraCoup-KD:

##### <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, ACN-d<sub>3</sub>) δ/ppm:

11,09 (s, 1H, NH); 8,15 (d, J=7,8Hz, 1H, CAr-H); 8,0-8,05 (m, 1H, CAr-H); 8,00 (dd, J=9,2, 1,4 Hz, 1H, CAr-H); 7,99-7,93 (m, 1H, CAr-H); 7,63-7,59 (m, 1H, CAr-H); 7,49-7,93 (m, 1H, CAr-H); 7,28 (d, J= 7,7Hz, 1H, CAr-H); 7,01 (d, J=6,0Hz, 1H, CAr-H); 6,99-6,92 (m, 1H, CAr-H); 6,87 (d, J=8,7 Hz, 1H, CAr-H); 6,70-6,00 (m, 1H, CAr-H); 8,00 (dd, J= 7,7, 5,9 Hz, 1H, CAr-H); 6,03 (d, J= 4,9 Hz, 1H, CAr-H); 4,4 (q, J=7,1Hz, 1H, Cyclobutanring-H); 4,23 (q, J=7,1Hz, 1H, Cyclobutanring-H); 4,13 Hz (q, J=6,8 Hz, 1H, Cyclobutanring-H); 3,88 (s, 3H, Car-O-CH<sub>3</sub>); 3,85 (s, 3H, Car-O-CH<sub>3</sub>); 3,42 (q, J=7,0 Hz, 1H, Cyclobutanring-H); 3,12-3,02 (m, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,27 (s, 9H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 0,90-0,83 (m, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

##### LC/MS (ESI): m/z (M<sup>+</sup>):

berechnet 659,26 g/mol; gefunden 618,4 g/mol. (M<sup>+</sup>+1 Na<sup>+</sup>).

##### HPLC-Messung:

Retentionszeit ACN/H<sub>2</sub>O (75/25) 15,8 min.

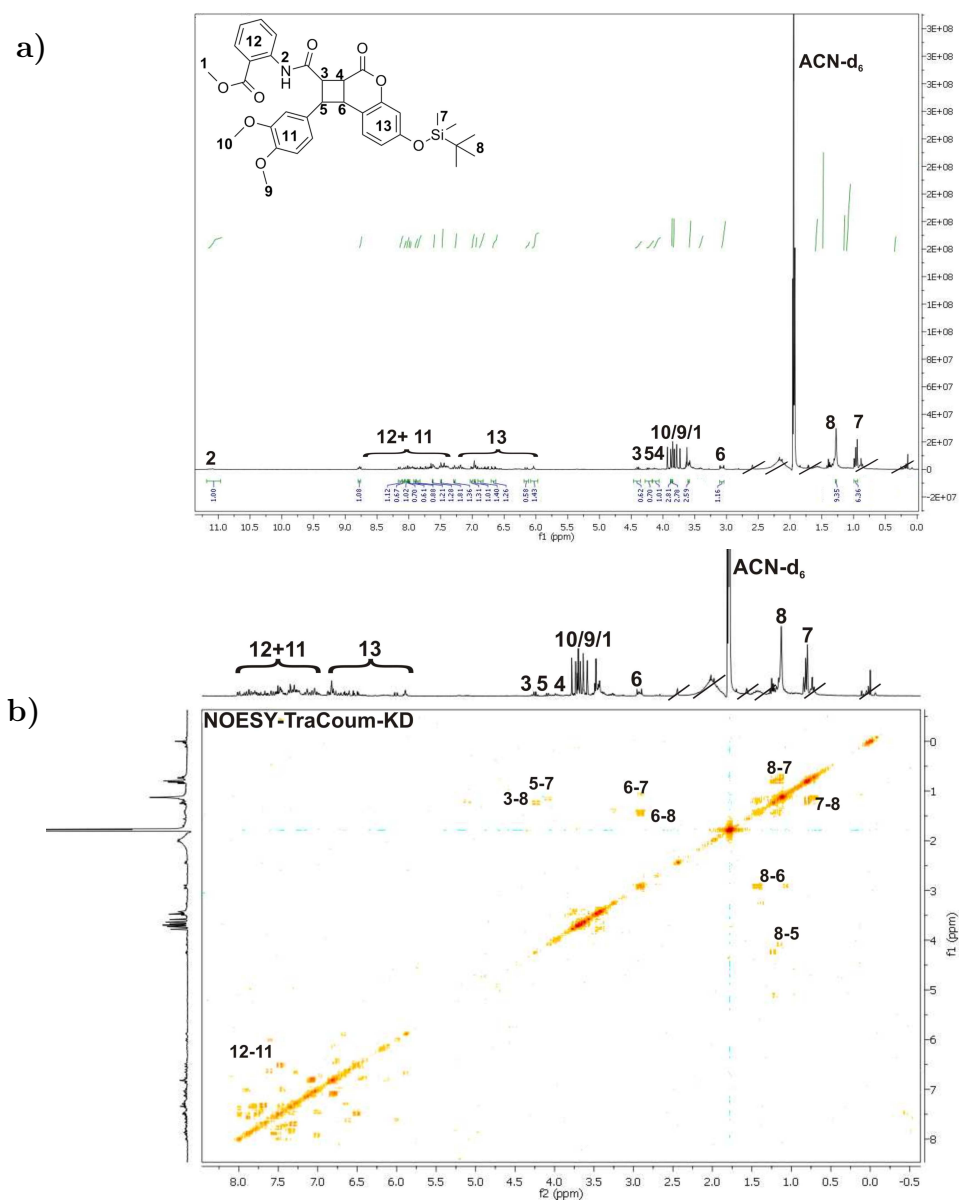


Abbildung 4.21: a)  $^1\text{H}$ -Spektrum und b) NOESY-Spektrum von TraCoum-KD.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

Die Synthese und Charakterisierung der Kinetik der Wirkstofffreisetzung aus der polymeren Matrix, bzw. die Kinetik der SPA- bzw. TPA- induzierten [2+2]-Cycloreversionsreaktionen der Homo- bzw. Kreuzdimere konnten erfolgreich durchgeführt werden. Die funktionalisierten Polymere wurden erfolgreich nach DIN ISO Norm mit einem UV-Absorber copolymerisiert und anschließend die Freisetzungskinetik charakterisiert.

Des Weiteren konnte auf das basierende Chalkon-H5FU (CFKD)-System die Synthese weiterentwickelt und dahingehend optimiert werden, dass ein transparentes Polymer erhalten wurde, welches durch einschlägige Freisetzungsuntersuchungen am Kreuzdimermolekül zu einer optimalen Bewertung der Freisetzungskinetik führte.

Lichtecktheitstests des Polymers zeigten dass es durch Copolymerisation mit dem UV-Absorber die photoinduzierte Freisetzung möglich war und erfolgreich durchgeführt werden konnte. Dies ebnet den nächsten Schritt zur Anwendung in einem in vivo Experiment.

TPA- induzierte Freisetzungsuntersuchungen zeigten, dass nur marginal weniger Wirkstoff von dem Linker photochemisch gespalten und freigesetzt wurde. Der Unterschied in Hinblick auf die freigesetzte 5-FU Konzentration beider Systeme (mit und ohne UV-Absorber) betrug insgesamt 1 % (Kapitel 3.10 und 3.11.4) und kann unter Berücksichtigung der hohen Beladung und insgesamt hohen Freisetzungsrates vernachlässigt werden. Das 5-FU-Homodimer enthaltene Polymer wurde wie das CFKD-Polymer photochemisch synthetisiert und nach der, in dieser Arbeit entwickelten allgemeinen Vorschrift an das Polymer kovalent gebunden. Auch die Quantifizierung der SPA- und TPA-induzierten Spaltungsreaktion und die anschließende Freisetzungskinetik konnte durch die in dieser Arbeit entwickelte Vorschrift erfolgreich durchgeführt werden. Die H5FU-Homodimere wiesen eine allgemein schlechtere photoinduzierte Spaltungseigenschaft im Vergleich zum Chalkon-H5FU Kreuzdimer auf. Allerdings zeigten die TPA-Experimente dass sogar UV-Absorber enthaltene Polymere genügend 5-FU freisetzen konnten, um für eine spätere Anwendung für die PCO in Betracht gezogen zu werden. Der Vorteil an den H5FU-Homodimeren ist die einfache, effiziente und reproduzierbare Synthese im Vergleich zu



den Kreuzdimeren.

Dank dieser Systeme konnte eine allgemeine Vorschrift für die Synthese der jeweiligen Kreuz- und Homodimere entwickelt werden. Neben dieser Herstellungsprotokolle konnten allgemeine Vorschriften entworfen werden, die die thermischen und Lichtechtheits-Tests umfassen.

Beide Systeme waren lichtecht und konnten nach einer definierten Bestrahlungsphase immer noch photochemisch aktiviert werden. Ferner waren diese thermisch stabil, so dass sie für eine spätere Anwendung sowohl sterilisiert werden können, als auch in vivo durch Exposition mit Sonnenlicht keine ungewollt induzierte Freisetzung stattfindet.

Die Entwicklung eines Polymers, in dem ein Fluoreszenzfarbstoff-Linker-Molekül kovalent gebunden wurde, konnte auf vielversprechende Weise erzeugt werden.

Diese Versuche zeigten dass zunächst nur aus den oberen Schichten der Polymermatrix der Farbstoff gespalten und freigesetzt wird. Bei folgenden Bestrahlungseinheiten werden tiefere Schichten erreicht und aktiviert, was zur Freisetzung, auch auf der gegenüberliegenden Seite des zu bestrahlenden Polymers, führte.

Die Charakterisierung des Paternò-Büchi Produkts bestehend aus dem Photosensibilisator Benzophenon und dem Wirkstoff H5FU konnte erfolgreich durch verschiedene analytische Versuchsreihen charakterisiert werden. SPA-Prozesse zeigten dass eine Spaltung des entstandenen Oxetans durchgeführt werden konnte.

Wesentlich ist ferner die Untersuchung des Wirkstoffes Tranilast, welches als Alternative zum zytotoxisch wirkenden 5-FU eingesetzt werden soll. Photochemische Experimente mit dem Rayonet-Reaktor zeigten, dass Kreuzdimere mit dem Linker-Molekül Coumarin entstanden sind, die auch durch SPA-induzierte Prozesse wieder gespalten werden konnten.

Zusammenfassend konnten erfolgreich Drug-Delivery-Systeme erzeugt und allgemeine Vorschriften für Synthese und nachfolgenden Untersuchungen entwickelt werden. Es gilt zu evaluieren welches System den größeren Nutzen bringt. CFKD besitzt im Vergleich zum H5FU-HD hervorragende photochemische Eigenschaften in den, für die in TPA- und SPA-Prozessen genutzten Wellenlängen. Allerdings ist die Synthese aufwändig und aufgrund der Tatsache dass Chalkon zur photoinduzierten E/Z-Isomerisierung neigt, der Umsatz sehr gering<sup>[196]</sup>. Hierbei gilt abzuwägen, ob ein System zu präferieren ist, welches diese hervorragenden photochemischen Eigenschaften aufweist, aber bzgl. der Effizienz der Synthese deutliche Defizite aufweist. Oder im Vergleich dazu ein System wie das H5FU-HD gewählt wird, welches eine höhere Ausbeute während der Synthese aufweist, aber eine geringere photochemische Aktivität besitzt. Beide Systeme setzen genügend

5-FU frei um antiproliferativ auf LECs zu wirken und PCO erfolgreich zu behandeln. Für die zukunftsorientierte Weiterentwicklung dieser Systeme sind in vitro Tests an LECs und anschließend in vivo Tests notwendig, um den letzten Schritt bis zur Anwendung zu ebnen.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

<b>5-FU</b>	5-Fluoruracil
$\epsilon$	Molare dekadische Extinktionskoeffizient
$\lambda$	Lambda
$\phi$	Ein-Photonen-Quantenausbeute
$\pi$	Pi
$\sigma$	Sigma
$\nu$	Lichtfrequenz
<b>ACN</b>	Acetonitril
<b>BC</b>	8-hydroxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on
<b>BCA</b>	8-acetoxy-4-methyl-2H-Benzo[h]chromen-2-on
<b>BFKD</b>	Benzophenon - H5FU-Kreuzdimer
<b>et al.</b>	et alia
<b>eq.</b>	Equivalent
<b>d</b>	duplet
<b>CCKD</b>	Chinin-Chalkon-Kreuzdimer
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroform
<b>CFKD</b>	Chalkon-H5FU-Kreuzdimer
<b>COTBS</b>	4-tert-Butyldimethylsilyloxychalkon
<b>DCC</b>	Dicyclohexylcarbodiimid
<b>DMAP</b>	Dimethylaminopyridin

<b>DMF</b>	Dimethylformamid
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>Et<sub>3</sub>N</b>	Triethylamin
<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>GM</b>	Göppert-Meyer
<b>h</b>	Stunden
<b>H5FU</b>	Heptanoly-Fluoruracil
<b>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b>	ortho-Phosphorsäure
<b>HEMA</b>	Hydroxyethylmethacrylat
<b>HOMO</b>	Highest Occupied Molecule Orbital
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC<sub>50</sub></b>	Inhibitory concentration - beschreibt die mittlere inhibitorische Konzentration, bei der eine halbmaximale Inhibition beobachtet wird.
<b>KOH</b>	Kaliumhydroxid
<b>LD<sub>50</sub></b>	letale Dosis die für 50 % einer Population toxisch wirkt
<b>LC</b>	Liquid Chromatography
<b>LUMO</b>	Lowest Unoccupied Molecule Orbital
<b>MeOH</b>	Methanol
<b>MA</b>	Methacrylsäure
<b>MMA</b>	Methylmethacrylat
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Magnesiumsulfat
<b>min</b>	Minuten
<b>mJ</b>	milli Joule
<b>MS</b>	Mass Spectroscopy
<b>n.B.</b>	nach Bedarf

<b>Nd:YAG</b>	Neodym dotierter YAG-Kristall
<b>NaOH</b>	Natriumhydroxid
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Natriumhydrogencarbonat
<b>OD</b>	Optische Dichte
<b>PMMA</b>	Polymethoymethacrylat
<b>RT</b>	Raumtemperatur
<b>s</b>	Sekunden
<b>s</b>	Singulett
<b>SOMO</b>	Single Occupied Molecule Orbital
<b>SPA</b>	Single Photon Absorption
<b>UV</b>	Ultraviolett
<b>VIS</b>	Visual
<b>T</b>	Temperatur
<b>TraCOUM-KD</b>	Tranilast - Coumarin-Kreuzdimer
<b>TBDMS-Cl</b>	Tert-Butyldimethylsilyloxychlorid
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TCHD</b>	Trizyklus-Homodimere
<b>TCKD</b>	Trizyklus-Chalkon-Kreuzdimer
<b>TPA</b>	Two Photon Absorption
<b>t</b>	Zeit
<b>YAG</b>	Yttrium-Aluminium Grat
<b>anhyd.</b>	anhydrous
<b>bzw.</b>	Beziehungsweise
<b>H-Ar</b>	Wasserstoffatome Aromaten

# Literaturverzeichnis

- [1] M. T. Lin, M. F. Beal, *Nature* **2006**, 443(7113), 787–795.
- [2] R. Truscott, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **2003**, 35(11), 1500 – 1504.
- [3] W. H. Organization, [http://www.who.int/blindness/Vision2020\\_report.pdf](http://www.who.int/blindness/Vision2020_report.pdf) **2006**.
- [4] L. International, <http://www.lighthouse.org/research/statistics-on-vision-impairment/prevalence-of-vision-impairment/> **2011**.
- [5] Apple, D.J., Auffarth, G.U., Peng, Q., Visessook, N, *Slack Inc, Thorofare, NJ* **2000**, 157–215.
- [6] D. J. Apple, J. Ram, A. Foster, Q. Peng, *Survey of Ophthalmology* **2000**, 45, 1–160.
- [7] D. J. Apple, et al., *Survey of Ophthalmology* **1992**, 37(2), 73–116.
- [8] D. J. Werner L Apple, S. K. Pandey, *Slack Inc, Thorofare, NJ* **2000**, 399–417.
- [9] D. A. Schaumberg, M. R. Dana, W. G. Christen, R. J. Glynn, *Ophthalmology* **1998**, 105(7), 1213–21.
- [10] D. J. Apple, Q. Peng, N. Visessook, L. Werner, S. K. Pandey, E.-G. M, J. Ram, G. U. Auffarth, *Ophthalmology* **2001**, 108(3), 505–18.
- [11] S. D. Jr, X. Wang, W. D. Jr, J. Felius, *J AAPOS* **2006**, 10(2), 159–63.
- [12] L. Werner, S. K. Pandey, E.-G. M, N. Visessook, Q. Peng, D. J. Apple, *Ophthalmology* **2000**, 107(3), 463–71.
- [13] S. Sacu, R. Menapace, W. Buehl, G. Rainer, O. Findl, *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **2004**, 30(9), 1875–1882.
- [14] E. P. Steinberg, J. C. Javitt, P. D. Sharkey, A. Zuckerman, M. W. Legro, G. F. Anderson, E. B. Bass, O. D., *Arch Ophthalmol.* **1993**, 111(8), 1041–49.
- [15] M. R. Tetz, M. W. Ries, C. Lucas, H. Stricker, H. E. Völcker, *J Cataract Refract Surg.* **1996**, 22(8), 1070–78.
- [16] M. M. Ismail, J. L. Alió, R. M. JM., *Ophthalmic Res.* **1996**, 28(1), 64–69.
- [17] W. Power, D. Neylan, L. Collum, *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **1994**,

- 20(3), 287–290.
- [18] J. D. Brown, P. A. Pearson, D. et al., *ARVO abstract 3063 Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1991**, 32, 1293.
- [19] S. Härtner, H.-C. Kim, N. Hampp, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2007**, 45(12), 2443–2452.
- [20] J. Liese, N. A. Hampp, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2010**, 209(23), 128 – 134.
- [21] S. Inal, J. D. Kolsch, F. Sellrie, J. A. Schenk, E. Wischerhoff, A. Laschewsky, D. Neher, *J. Mater. Chem. B* **2013**, 1, 6373–6381.
- [22] J. E. Lee, N. Lee, H. Kim, J. Kim, S. H. Choi, J. H. Kim, T. Kim, I. C. Song, S. P. Park, W. K. Moon, T. Hyeon, *Journal of the American Chemical Society* **2010**, 132(2), 552–557.
- [23] J. Liese, Dissertation, Philipps Universität Marburg, **2011**.
- [24] M. J. Haurani, K. Foreman, J. J. Yang, A. Siddiqui, *Plastic and Reconstructive Surgery* **2009**, 123(1), 139–148.
- [25] F. Fankhauser, H. Lörtscher, van der Zypen E., *Int Ophthalmol.* **1982**, 5(1), 15–32.
- [26] D. D. Koch, J. F. Liu, E. P. Gill, P. D. 2nd., *Arch Ophthalmol.* **1989**, 107(7), 986–990.
- [27] U. F. Legler, D. J. Apple, E. I. Assia, E. C. Bluestein, V. E. Castaneda, S. L. Mowbray, *J Cataract Refract Surg.* **1993**, 19(4), 462–470.
- [28] J. M. Ruíz, M. Medrano, J. L. Alió, *Ophthalmic Res.* **1990**, 22(4), 201–208.
- [29] S. K. Pandey, B. Cochener, D. J. Apple, J. Colin, L. Werner, R. Bougaran, R. H. Trivedi, T. A. Macky, A. M. Izak, *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **2002**, 28(1), 139 – 148.
- [30] M. AJ, P. SK, N. G, M. E, *Archives of Ophthalmology* **2005**, 123(10), 1378–1384.
- [31] S. Härtner, H.-C. Kim, N. Hampp, *Proc. SPIE* **2004**, 5323, 382–389.
- [32] J. Liese, N. Hampp, *The Journal of Physical Chemistry A* **2011**, 115(14), 2927–2932.
- [33] J. Träger, S. Härtner, J. Heinzer, H.-C. Kim, N. Hampp, *Chemical Physics Letters* **2008**, 455(4), 307 – 310.
- [34] M. Rogosnitzky, R. Danks, E. Kardash, *Anticancer Research* **2012**, 32(7), 2471–2478.
- [35] I. Tobari, Y. Iwaki, K. Miyake, *J Cataract Refract Surg.* **1999**, 25(10), 1394–9.

- [36] H. Y. Kim, H. I. Lee, Y. S. Chun, J. C. Kim, *J Korean Ophthalmol Soc* **2008**, 49(12), 1981–1988.
- [37] R. B. Woodward, R. Hoffmann, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1969**, 8(11), 781–853.
- [38] R. B. Woodward, R. Hoffmann, *Journal of the American Chemical Society* **1965**, 87(2), 395–397.
- [39] P. Sykes, *Reaktionsmechanismen der Organischen Chemie*, 9., überarbeitete Auflage Aufl., VCH, **1988**.
- [40] D. Wöhrle, M. W. Tausch, W.-D. Stohrer, *Photochemie*, WILEY-VCH Verlag, **1998**.
- [41] R. Hoffmann, R. B. Woodward, *Journal of the American Chemical Society* **1965**, 87(19), 4389–4390.
- [42] G. S. Hammond, C. A. Stout, A. A. Lamola, *Journal of the American Chemical Society* **1964**, 86(15), 3103–3106.
- [43] M. D. Auria, R. Racioppi, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2004**, 163(3), 557 – 559.
- [44] F. D. Lewis, S. V. Barancyk, *Journal of the American Chemical Society* **1989**, 111(23), 8653–8661.
- [45] H.-C. Kim, S. Kreiling, A. Greiner, N. Hampp, *Chemical Physics Letters* **2003**, 372(5), 899 – 903.
- [46] S. R. Trenor, A. R. Shultz, B. J. Love, T. E. Long, *Chemical Reviews* **2004**, 104(6), 3059–3078.
- [47] G. Ciamician, P. Silber, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1902**, 35(4), 4128–4131.
- [48] G. O. Schenck, I. von Wilucki, C. H. Krauch, *Chemische Berichte* **1962**, 95(6), 1409–1412.
- [49] A. Lembares, X. H. Hu, G. W. Kalmus, *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **1997**, 38(6), 1283.
- [50] W. Ambach, M. Blumthaler, T. Schöpf, E. Ambach, F. Katzgraber, F. Daxecker, A. Daxer, *Documenta Ophthalmologica* **1994**, 88(2), 165–173.
- [51] M. Göppert-Mayer, *Annalen der Physik* **1931**, 401(3), 273–294.
- [52] H.-H. Perkampus, *Encyclopedia of Spectroscopy*, VCH Verlag, Weinheim, **1995**.
- [53] W. Kaiser, C. G. B. Garrett, *Phys. Rev. Lett.* **1961**, 7, 229–231.
- [54] L. Parma, N. Omenetto, *Chemical Physics Letters* **1978**, 54(3), 541 – 543.



- [55] J. D. Bhawalkar, G. S. He, P. N. Prasad, *Rep. Prog. Phys.* **1996**, 59(9), 1041–70.
- [56] R. Wayne, *Principles and Applications of Photochemistry*, Oxford University Press, **1988**.
- [57] H. Eichler, B. Liu, J. Kunde, A. Haase, Laser-System mit SBS-Glasfaser-Phasenkonjugation Laser system with SBS phase conjugation fiber, **2002**, dE Patent 19,621,461.
- [58] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, K. M. Shakesheff, *Chemical Reviews* **1999**, 99(11), 3181–3198.
- [59] R. Langer, *Nature* **1998**, 392(6679), 5–10.
- [60] J. Brouwers, *Pharmacy World and Science* **1996**, 18(5), 153–162.
- [61] J. Panetta, *Bulletin of Mathematical Biology* **1996**, 58(3), 425–447.
- [62] N. A. Thornberry, Y. Lazebnik, *Science* **1998**, 281(5381), 1312–1316.
- [63] K. A. Walter, R. J. Tamargo, A. Olivi, P. C. Burger, H. Brem, *Neurosurgery* **1995**, 37(6), 1129–45.
- [64] W. Dang, O. M. Colvin, H. Brem, W. M. Saltzman, *Cancer Research* **1994**, 54(7), 1729–1735.
- [65] N. Katayama, R. Tanaka, Y. Ohno, C. Ueda, T. Houjou, K. Takada, *International Journal of Pharmaceutics* **1995**, 115(1), 87 – 93.
- [66] R. Falk, T. W. Randolph, J. D. Meyer, R. Kelly, M. C. Manning, *Journal of Controlled Release* **1997**, 44(1), 77 – 85.
- [67] O. L. Johnson, J. L. Cleland, H. J. Lee, M. Charnis, E. Duenas, W. Jaworowicz, D. Shepard, A. Shahzamani, A. J. Jones, S. D. Putney, *Nat Med* **1996**, 2(7), 795–799.
- [68] J. McGee, S. Davis, D. O’Hagan, *Journal of Controlled Release* **1994**, 31(1), 55 – 60.
- [69] J. Heller, *Advanced Drug Delivery Reviews* **1993**, 10(23), 163 – 204.
- [70] R. Langer, *Annals of Biomedical Engineering* **1995**, 23(2), 101–111.
- [71] S. E. Matthews, C. W. Pouton, M. D. Threadgill, *Advanced Drug Delivery Reviews* **1996**, 18(2), 219 – 267.
- [72] Y. Machida, *Yakugaku Zasshi* **1993**, 113(5), 356–68.
- [73] P. Lan, S. Corneillie, E. Schacht, M. Davies, A. Shard, *Biomaterials* **1996**, 17(23), 2273 – 2280.
- [74] J. M. Schierholz, A. Rump, G. Pulverer, *Arzneimittelforschung* **1997**, 47(1), 70–74.

- [75] R. Duncan, F. Spreafico, *Clinical Pharmacokinetics* **1994**, 27(4), 290–306.
- [76] A. Apicella, B. Cappello, M. D. Nobile, M. L. Rotonda, G. Mensitieri, L. Nicolais, *Biomaterials* **1993**, 14(2), 83 – 90.
- [77] S. Herman, G. Hooftman, E. Schacht, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* **1995**, 10(2), 145–187.
- [78] A. F. Rudolf Voigt, *Pharmazeutische Technologie/Biopharmazie*, Deutscher Apotheker Verlag, **2015**.
- [79] I. Y., I. Y., *Pure and Applied Chemistry* **1995**, 67(12), 2015–21.
- [80] O. Veisoh, J. W. Gunn, M. Zhang, *Adv Drug Deliv Rev* **2009**, 62(3), 284–304.
- [81] (Hrsg.: A. J. Domb), *Polymeric site-specific pharmacotherapy*, (Hrsg.: A. J. Domb), Wiley, Chicester, U.K, **1994**.
- [82] I. N. Topchieva, N. V. Efremova, N. V. Khvorov, N. N. Magretova, *Bioconjugate Chemistry* **1995**, 6(4), 380–388.
- [83] M. Amiji, K. Park, *Biomaterials* **1992**, 13(10), 682 – 692.
- [84] Y. F. Maichuk, *Lancet* **1975**, 1(7899), 173.
- [85] V. Baeyens, V. Kaltsatos, B. Boisramé, E. Varesio, J. L. Veuthey, M. Fathi, L. P. Balant, G.-F. M, R. Gurny, *J Control Release* **1998**, 52(1), 215–20.
- [86] F. Gurtler, V. Kaltsatos, B. Boisramé, J. Deleforge, G.-F. M, L. P. Balant, R. Gurny, *Pharm Res* **1995**, 12(11), 1791–95.
- [87] J. P. Hubschman, S. Reddy, S. D. Schwartz, *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)* **2009**, 3, 155–166.
- [88] E. M. del Amo, A. Urtti, *Drug Discovery Today* **2008**, 13(34), 135 – 143.
- [89] X. Huang, C. S. Brazel, *Journal of Controlled Release* **2001**, 73(23), 121 – 136.
- [90] S. Steuer, Dissertation, Technischen Hochschule Aachen, **2003**.
- [91] R. Dahm, *Biologie in unserer Zeit* **2003**, 33(6), 366–374.
- [92] R. Dahm, *Bild der Wissenschaft* **1999**, 11, 62.
- [93] R. W. Young, *Age-related cataract*, Oxford University Press, **1991**.
- [94] L. Heister, *De cataracta, glaucomate et amaurosi tractatio*, Universitätsbibliothek Erlangen-Nürnberg, **Altdorf 1713**, Sign. Trew IX 825.
- [95] L. Heister, *Chirurgie*, Universitätsbibliothek Erlangen-Nürnberg, **Nürnberg 1719**, Sign. 4 Trew P 358.
- [96] D. B. E. K. Pesudovs, *Optometry today Optics today* **2001**, 30–32.
- [97] A. Henning, *Klin Monatsbl Augenheilkd* **1991**, 199(12), 461–466.
- [98] P. D. S. Dithmar, <http://www.operation.de/grauer-star-symptome-ursachen->

*diagnose/* **2011.**

- [99] M. A. Isawumi, O. U. Kolawole, M. B. Hassan, *Ghana Medical Journal* **2013**, 47(2), 64–69.
- [100] J. N. Matthias Sachsenweger, Volker Klauß, *Duale Reihe Augenheilkunde*, Thieme MLP, **2002**.
- [101] B. N. Mukesh, A. Le, P. N. Dimitrov, S. Ahmed, H. R. Taylor, M. CA., *Arch Ophthalmol* **2006**, 124(1), 79–85.
- [102] S. J. Dawczynski J, *Ophthalmologe* **2006**, 103(9), 759–64.
- [103] R. Augsten, J. Dawczynski, W. Pfister, C. Codina, E. Königsdörffer, *Ophthalmologe* **2008**, 105(11), 1043–45.
- [104] Y. R. W., *Age Related Cataract*, Oxford University Press, **1991**.
- [105] M. G. Wirth, I. M. Russell-Eggitt, J. E. Craig, J. E. Elder, D. A. Mackey, *Br J Ophthalmol* **2002**, 86(7), 782–86.
- [106] C. Zetterström, A. Lundvall, M. Kugelberg, *J Cataract Refract Surg* **2005**, 31(4), 824–40.
- [107] T. S. Carl Erb, *Medikamentöse Augentherapie*, Thieme, **2010**.
- [108] I. für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG), <https://www.gesundheitsinformation.de/grauer-star-katarakt.2268.de.html> **2013**.
- [109] N. Ibaraki, *Nat Med* **1997**, 3(9), 958–960.
- [110] R. M. Awdeh, T. P. O'Brien, *Retinal Physician* **2009**, 7.
- [111] O. Walt Mayo, [http://eyeatlas.org/upload/files/1/1\\_024\\_yag\\_pits2.jpg](http://eyeatlas.org/upload/files/1/1_024_yag_pits2.jpg) **2013**.
- [112] L. Werner, S. K. Pandey, A. M. Izak, L. G. Vargas, R. H. Trivedi, D. J. Apple, N. Mamalis, *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **2004**, 30(5), 1114–1123.
- [113] A. Coombes, H. Seward, *British Journal of Ophthalmology* **1999**, 83(6), 640–641.
- [114] O. Nishi, K. Nishi, J. Akura, T. Nagata, *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **2001**, 27(4), 608–613.
- [115] E. J. Hollick, D. J. Spalton, P. G. Ursell, M. V. Pande, S. A. Barman, J. F. Boyce, K. Tilling, *Ophthalmology* **1999**, 106(1), 49–55.
- [116] C. Abela-Formanek, M. Amon, G. Schild, J. Schauersberger, G. Heinze, A. Kruger, *Journal of Cataract & Refractive Surgery* **2002**, 28(1), 50–61.
- [117] S. Kreiling, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2004**.
- [118] H. C. Kim, S. Härtner, M. Behe, T. M. Behr, N. A. Hampp, *J Biomed Opt.* **2006**, 11(3), 119.
- [119] H.-C. Kim, S. Härtner, N. Hampp, *Journal of Photochemistry and Photobiology*

- A: Chemistry* **2008**, 197(2), 239 – 244.
- [120] M. Platten, C. Wild-Bode, W. Wick, J. Leitlein, J. Dichgans, M. Weller, *International Journal of Cancer* **2001**, 93(1), 53–61.
- [121] N. Hampp, H.-C. Kim, S. Kreiling, L. Hesse, A. Greiner, *Therapeutic Laser Applications and Laser-Tissue Interactions* **2003**, 5142, 161.
- [122] C. Sinkel, A. Greiner, S. Agarwal, *Macromolecules* **2008**, 41(10), 3460–3467.
- [123] P. Behrendt, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2013**.
- [124] D. Kehrlösser, J. Träger, H.-C. Kim, N. Hampp, *Langmuir* **2010**, 26(6), 3878–3882, pMID: 20214391, DOI 10.1021/la903433r.
- [125] N. A. Kuznetsova, O. L. Kaliya, *Russian Chemical Reviews* **1992**, 61(7), 683.
- [126] C. H. Krauch, S. Farid, G. O. Schenck, *Chemische Berichte* **1966**, 99(2), 625–633.
- [127] C. Heidelberger, N. K. Chaudhuri, P. Danneberg, D. Mooren, L. Griesbach, R. Duschinsky, R. J. Schnitzer, E. Plevén, J. Schreiner, *Nature* **1957**, 179(4561), 663–666.
- [128] M. M. Lipke, *Clinical Medicine and Research* **2006**, 4(4), 273–293.
- [129] R. R. Kaur, A. Alikhan, H. I. Maibach, *J Dermatolog Treat.* **2010**, 21(5), 267–71.
- [130] E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, S. Menzel, P. Ruth, *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Pharmakologie - Klinische Pharmakologie - Toxikologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, **2008**.
- [131] K. Aktories, U. Förstermann, F. B. Hofmann, K. Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, **2013**.
- [132] E. M. Van Buskirk, *American Journal of Ophthalmology* **1982**, 94(4), 522–527.
- [133] J. HD, M. LB, D. GR, L. NL, Q. HA, *Archives of Ophthalmology* **1988**, 106(1), 89–94.
- [134] M. S. Rich AM, *Ann Ophthalmol* **1973**, 5, 1082–85.
- [135] R. Ross, *Biological Reviews* **1968**, 43(1), 51–91.
- [136] H. Mietz, *Dtsch Arztebl International* **1997**, 94(25), A–1715–1722.
- [137] T. M. Rabsilber, G. U. Auffarth, *Klin Monatsbl Augenheilkd* **2006**, 223(7), 559–567.
- [138] V. Fernandez, M. A. Fragoso, C. Billotte, P. Lamar, M. A. Orozco, S. Dubovy, M. Willcox, J. M. Parel, *J Cataract Refract Surg.* **2004**, 30(12), 2598–605.
- [139] X. Huang, Y. Wang, J.-P. Cai, X.-Y. Ma, Y. Li, J.-W. Cheng, R.-L. Wei, *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* **2013**, 29(2), 208–215.
- [140] A. Huhtala, S. Rönkkö, M. Teräsvirta, T. Puustjärvi, R. Sihvola, K. Vehanen,

- A. Laukkanen, J. Anttila, A. Urtti, T. Pohjonen, H. Uusitalo, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* **2009**, 50(5), 2216–23.
- [141] A. H. M. Gillian Beattie, Proliferation humaner endokriner pankreaszellen in kultur, **1997**.
- [142] I. M. Wormstone, C. S. Liu, J. M. Rakic, J. M. Marcantonio, G. F. Vrensen, G. Duncan, *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **1997**, 38(2), 396.
- [143] S. Härtner, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2006**.
- [144] H. Azuma, K. Banno, T. Yoshimura, *British Journal of Pharmacology* **1976**, 58(4), 483–488.
- [145] H. Yamada, S. Tajima, T. Nishikawa, S. Murad, S. R. Pinnell, *Journal of Biochemistry* **1994**, 116(4), 892–897.
- [146] M. Isaji, M. Nakajoh, J. Naito, *Biochemical Pharmacology* **1987**, 36(4), 469 – 474.
- [147] A. Koda, H. Nagai, S. Watanabe, Y. Yanagihara, K. Sakamoto, *J Allergy Clin Immunol* **1976**, 57(5), 396–407.
- [148] M. Spiecker, I. Lorenz, N. Marx, H. Darius, *Mol Pharmacol* **2002**, 62(4), 856–63.
- [149] H. Ochiai, Y. Ochiai, E. Chihara, *The Kobe journal of the medical sciences* **2001**, 47(5), 203–209.
- [150] M. Wang, J. J. Zhang, T. L. Jackson, X. Sun, W. Wu, J. Marshall, *J Cataract Refract Surg* **2007**, 33(12), 2122–8.
- [151] H. Suzawa, S. Kikuchi, N. Arai, A. Koda, *Jpn J Pharmacol.* **1992**, 60(2), 91–6.
- [152] S. Shigeki, T. Murakami, N. Yata, Y. Ikuta, *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery* **1997**, 31(2), 151–158.
- [153] H. Suzawa, S. Kikuchi, K. Ichikawa, A. Koda, *Jpn J Pharmacol.* **1992**, 60(2), 85–90.
- [154] X. Yu, D. Scheller, O. Rademacher, T. Wolff, *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68(19), 7386–7399.
- [155] T. Wolff, H. Gerner, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6, 368–376.
- [156] C. Sinkel, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2010**.
- [157] M. F. Cordeiro, D. Siriwardena, L. Chang, P. T. Khaw, *Current Opinion in Ophthalmology* **2000**, 11(2), 121–126.
- [158] J. Liese, Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2008**.
- [159] M. D. Auria, A. Vantaggi, *Tetrahedron* **1992**, 48(12), 2523–2528.
- [160] R. S. Becker, S. Chakravorti, C. A. Gartner, M. de Graca Miguel, *J. Chem. Soc.*,

- Faraday Trans.* **1993**, *89*, 1007–1019.
- [161] R. Improta, V. Barone, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*(44), 14320–14321.
- [162] F. Santoro, V. Barone, T. Gustavsson, R. Improta, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*(50), 16312–16322.
- [163] B. E. Billinghurst, R. Yeung, G. R. Loppnow, *The Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*(19), 6185–6191.
- [164] J. F. Kunzler, Sterilization of intraocular lenses, **2012**.
- [165] X. Su, S. Li, J. Zheng, *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* **1996**, *32*(5), 339–41.
- [166] M. Schraub, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2011**.
- [167] A. D. Dr. Artur Rosenberg, *Forschungsgesellschaft Druck* **1998**.
- [168] M. O'Neill, S. M. Kelly, *Journal of Physics D: Applied Physics* **2000**, *33*(10), R67.
- [169] P. Heike, Dissertation, Humboldt-Universität zu Berlin, **1972**.
- [170] R. D. Schoenwald, R. L. Ward, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1978**, *67*(6), 786–788.
- [171] J. W. McLaren, N. Ziai, R. F. Brubaker, *Experimental Eye Research* **1993**, *56*(3), 355 – 366.
- [172] G. C. E. Paternò, *Gazz. Chim. Ital.* **1909**, *39*, 341–361.
- [173] C. G. I. G. Büchi, E. S. Lipinsky, : *Journal of the American Chemical Society*. **1954**, *76*(17), 4327–31.
- [174] M. D'Auria, R. Racioppi, *Molecules* **2013**, *18*(9), 11384–11428.
- [175] D. G. Kingston, *Pharmacol Ther.* **1991**, *52*(1), 1–34.
- [176] J. mei Huang, R. Yokoyama, C. shu Yang, Y. Fukuyama, *Tetrahedron Letters* **2000**, *41*(32), 6111 – 6114.
- [177] Y. Wang, G. Fleet, R. Storer, P. Myers, C. Wallis, O. Doherty, D. Watkin, K. Vogt, D. Witty, F. Wilson, J. Peach, *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*(8), 527 – 530.
- [178] C. O-Yang, W. Kurz, E. M. Eugui, M. J. McRoberts, J. P. Verheyden, L. J. Kurz, K. A. Walker, *Tetrahedron Letters* **1992**, *33*(1), 41 – 44.
- [179] Y. Kawahata, S. Takatsuto, N. Ikekawa, M. Murata, S. Omura, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. **1986**, *34*(8), 3102–10.
- [180] J. Franck, E. G. Dymond, *Trans. Faraday Soc.* **1926**, *21*, 536–542.
- [181] E. Condon, *Phys. Rev.* **1926**, *28*, 1182–1201.
- [182] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Thieme, **2002**.

- [183] M. T. und M. Balzer, *PdN Chemie* **1998**, 7(47), 14–20.
- [184] J. d. P. Peter W. Atkins, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2013**.
- [185] L. Salem, C. Rowland, *Angewandte Chemie* **1972**, 84(3), 86–106.
- [186] W. Adam, P. Hoessel, W. Huemmer, H. Platsch, R. M. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109(24), 7570–7572.
- [187] M. S. Platz, *Kinetics and Spectroscopy of Carbenes and Biradicals*, Springer Science and Business Media New York, **1990**.
- [188] J. Kopecký, *Organic Photochemistry: A Visual Approach*, VCH Publishers, New York, **1992**.
- [189] N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, U.S., **1991**.
- [190] B. Bigot, A. Devaquet, N. J. Turro, *Journal of the American Chemical Society* **1981**, 103(1), 6–12.
- [191] E. Paternò, G. Chieffi, *Gazz. Chim. Ital.* **1910**, 40, 321–331.
- [192] K.-I. Seki, K. Aizawa, T. Sugaoi, M. Kimura, K. Ohkura, *Chemistry Letters* **2008**, 37(8), 872–873.
- [193] C. Puglia, A. Offerta, C. Carbone, F. Bonina, R. Pignatello, G. Puglisi, *Current Medicinal Chemistry* **2015**, 22(13), 1589–1602.
- [194] G.-C. D. Larrañaga-Osuna G, *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* **2011**, 49(3), 259–266.
- [195] m. Inan, F. Öztürk, S. Kaynak, S. Ilker, E. Özer, C. Güler, *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **2001**, 239(9), 693–697.
- [196] P. P, M. Takács, E. Osz, Z. Pintér, J. Vámos, T.-N. K., *J Chromatogr Sci.* **2005**, 43(6), 289–95.
- [197] C. Goretzki, Dissertation, Bergischen Universität Gesamthochschule Wuppertal, **2000**.
- [198] W. A. D. D. PERRIN, *Purification of Laboratory Chemicals*, Butterworth-Heinemann, **1997**.
- [199] A. R. Robertson, *Color Research & Application* **1977**, 2(1), 7–11.

## 7 Danksagung

An dieser Stelle danke ich all denen, die zu dem Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben und mich all die Jahre, insbesondere während des Pharmaziestudiums unterstützt haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. N. Hampp für die freundliche Aufnahme in seiner Arbeitsgruppe, das interessante Thema was er mir zur selbständigen Arbeit zur Verfügung gestellt hat. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. N. Hampp für die Nutzung der technischen Ausstattung der Arbeitsgruppe.

Bei Herrn Prof. Dr. A. Greiner bedanke ich mich herzlich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Bei Herrn Prof. Dr. M. Motzkus bedanke ich mich für die großzügige Bereitstellung seines Infinity-Lasers für die TPA-Messungen und die überaus freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis während dieser Zeit.

Herrn Dr. Tiago Buckup aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Motzkus danke ich für die Unterstützung während der Mess-Marathons in Heidelberg.

Der gesamten AG Hampp insbesondere der Actiol Abteilung möchte ich für die fruchtbaren Diskussion danken. Besonders danke ich Dr. Hee-Cheol Kim für seine fachliche und praktische Unterstützung während der Aufnahmen mit der CCD-Kamera, und bei Versuchs- bzw. Optikaufbauten für Laser-Messungen.

Mein besonderer Dank geht an Nina Schneider, die mich im Labor unterstützt und immer ein offenes Ohr für mich hatte. Dazu zählt auch Philipp Kahler der mich durch manche Messeinheiten an der LC/MS gerettet und tatkräftig unterstützt hat.

Dr. Frank Noll danke ich für das schnelle Korrekturlesen dieser Arbeit. Dass er immer



ein offenes Ohr für mich hatte und bei den noch zu veröffentlichen Manuskripten, mich tatkräftig unterstützt.

Mein Dank gilt den Studenten Oliver Peetz, Lisa Vondung, Tobias Kranz, Viola und Magdalena Scharf, die im Zuge ihrer Bachelorarbeit oder Mastervertiefung meine Arbeit unterstützt haben.

Weiterhin möchte ich meinen zahlreichen Bürokollegen, die ich in den letzten Jahren hatte, für den Humor, die fruchtbaren Diskussionen sei es fachlicher oder humoristischer Natur danken.

Der Elektronik- und Feinmechanikwerkstatt danke ich für ihre schnelle und unkomplizierte Hilfe. Insbesondere Marcel Überall, Stefan Staubitz und Andreas Hedderich, aus der Feinmechanikwerkstatt, möchte ich für die präzise Anfertigungen von etlichen Halterungen und Konstruktionen danken.

Herrn Kröschel aus der Elektronikwerkstatt danke ich, dass er sich stets um den Nachschub für die Leuchtstoffröhren für den Rayonet-Reaktor gekümmert hat.

Michael Freundorfer danke ich für schnelle Reparaturen an sämtlichen spektroskopischen Messeinheiten.

Ich danke meinen Freunden für ihre Treue, den Glauben an mich und ihre Unterstützung, während dieser schweren Phase. Dazu zählen Daniel Schemionek, Kristin Mai, Stefan Braun, Anne Beikrich, Frank Schmidt, Maike Buch und Pierre Hillebrecht. Im Besonderen Danke ich Julia Liese für ihre Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit, sei es das wiederholte Korrekturlesen oder den Zuspruch oder die unzähligen Sushi-Frust-Bewältigungs-Abende.

Mathias Mangold danke ich, dass er diese Arbeit Korrektur gelesen hat und stets wertvolle Typs parat hatte.

Ich danke Emmi und Carlo für das geduldige Modellstehen der Abbildungen 1.18 in Kapitel 1.9.

Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen die mir diesen Weg erst ermöglicht haben. Ihre unersättliche Unterstützung während des Pharmaziestudiums und dass sie nie den Glauben an mich verloren haben.

Zuletzt möchte ich dem wichtigsten Menschen danken, meinem Ehemann Andreas Hedderich. Er hat mich nicht nur durch seine Liebe und seinen steten Glauben an mich unterstützt, sondern ebenso war er mir ein guter Berater bei technischen Fragen für Küvetten-Halterungen, Konstruktionen und Co.

Ihm verdanke ich, dass ich diese Arbeit zu Papier gebracht habe und er stets in dieser schweren und stressigen Phase für mich da war.

## Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation mit dem Titel:

**„Photoinduzierte Wirkstoff- und Farbstofffreisetzung aus hydrophilen Polymeren“**

selbstständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen, als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 22.07.2015



**Publikationen**

- 2012 R.-P. Baumann, A. P. Busch, B. Heidel, N. Hampp  
*„A New Class of Purple Membrane Variants for the Construction of Highly Oriented Membrane Assemblies Based on Noncovalent Interactions.“*  
*J. Phys. Chem. B*, 116 (2012) 4134-4149.
- 2012 A. Busch, M. Neebe, N. Hampp  
*„PEGylation of Membrane Proteins like Bacteriorhodopsin as a Tool to Increase their Stability towards Ethanol.“*  
*J. Phys. Chem. B*, 116 (2012) 14613-14617.
- 2014 A. P. Busch, D. Rhinow, F. Yang, H. Reinhardt, A. Beyer, A. Götzhäuser, N. Hampp  
*„Site-Selective Biomineralization of Native Biological Membranes.“*  
*J. Mat. Chem. B*, 2 (2014) 6924-6930.
- 2015 Annegret P. Busch, Nobert Hampp  
*„Two-Photon-Absorption Triggered Release of 5-Fluorouracil from Isomer-Pure Polymer-Bound Syn-Head-to-Head Dimers for Novel Intraocular Lenses.“*  
 In preparation
- 2015 Annegret P. Busch, Julia Liese, Nobert Hampp  
*„Synthesis and Photocleavage of a new polymerizable [2+2]- crossdimer for photo-triggered drug release from polymer backbone.“*  
 In preparation
- 2015 Annegret P. Busch, Hee-Cheol Kim, Nobert Hampp  
*„Synthesis and Imaging of photocleavage of a new crossdimer of a fluorescent dye and a linker for photo-triggered release from polymer backbone.“*  
 In preparation

**Poster**

- 03/2014 Annegret P. Busch, Norbert Hampp  
*„Photo-triggered drug release from functionalized hydrophilic polymers“*  
 Sino-German Workshop “Functional (Nano-) Biomaterials”, Marburg
- 06/2012 Annegret P. Busch, Julia Liese, Norbert Hampp  
*„Kinetics of photo-triggered drug release from intraocular lenses“*  
 XXIV IUPAC Symposium Photochemistry, Coimbra, Portugal